This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

TASCHENBUCH

DER

OGISCH-HISTOLOGISCHEN

UCHUNGSMETHODEN

N DR. H. BEITZKE

LANE MEDICAL LIBRARY STANFORD STOR
17 .B42 1907
echenbuch der pathologisch-histologisc
24503334348

LANE

MEDICAL LIBRARY

Gift

Taschenbuch

der

pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden

von

Dr. H. Beitzke,
Privatdozent und Prosektor am Pathologischen Institut
zu Berlin.

Leipzig
Verlag von Johann Ambrosius Barth
1907.

11C340
DEC 7 - 1949

Druck von C. Grumbach in Leipzig.

37
342
907

Vorwort.

Das vorliegende Büchlein ist auf Anregung der Verlagsbuchhandlung entstanden. Es ist bestimmt für Studenten, Medizinalpraktikanten und solche Ärzte (insbesondere Krankenhausärzte), die die für sie in Betracht kommenden Untersuchungen selbst ausführen wollen. Es bringt daher nur eine beschränkte Auswahl brauchbarer und tunlichst einfacher Methoden, auch ist die elementare Technik etwas ausführlicher behandelt als in den bekannten größeren Büchern von v. Kahlden und Schmorl, die für den Berufshistologen seit langem unentbehrlich sind. Ich hoffe indessen, daß auch dies kleine Büchlein sich Freunde erwirbt.

Berlin, im Mai 1907.

H. Beitzke.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Instrumentarium	7
Untersuchung frischer Präparate	11
Fixierung und Härtung	14
Entkalkung	18
Einbettung	19
Paraffineinbettung	20
Paraffin-Schnelleinbettung	22
Celloidineinbettung	22
Schneiden	24
Paraffinschnitte	24
Celloidinschnitte	27
Allgemeines über Färbung und Konservierung von Schnittpräparaten	30
Kernfärbungen	33
Durchfärbung ganzer Stücke	35
Darstellung von Kernstrukturen und Kernteilungsfiguren	36
Protoplasmafärbungen	37
Darstellung von Protoplasmastrukturen	38
Vitale und supravitale Färbung	39
Bindegewebsfärbungen	40
Untersuchungsmethoden für pathologische Produkte	
1. Fibrin	42
2. Schleim	43
3. Amyloid und Corpora amylacea	44
4. Hyalin und Kolloid	45
5. Hornsubstanzen	45
6. Glykogen	46
7. Fett	47
8. Cholestearin	48
9. Kalk	48

Seite

10. Harnsaure Salze 49
11. Pigmente 49

Untersuchungsmethoden für die einzelnen Organe

1. Blut und Knochenmark 51
   Untersuchung von Blutspuren zu gerichtlichen Zwecken 55
2. Milz und Lymphdrüsen 55
3. Herz und Gefäße 56
4. Seröse Häute 56
5. Schleimhäute 56
6. Äußere Haut 57
7. Nervensystem 57
8. Knochen 62
9. Muskeln, Sehnen, Schleimbeutel 64
10. Lungen 64
11. Schilddrüse 64
12. Leber 65
13. Pankreas und Speicheldrüsen 65
14. Nieren 65
15. Nebennieren 66
16. Geschlechtsapparat 66
    Untersuchung von Samenflecken zu gerichtlichen Zwecken 66

Untersuchung von Probeexzisionen, Auskratzungen und Geschwulstteilchen 67

Untersuchung von Parasiten

1. Bakterien 67
2. Strahlenpilze 70
3. Sproßpilze 70
4. Fadenpilze 71
5. Protozoen 71
6. Höhere tierische Parasiten 73

Anhang: Konservierung makroskopischer Präparate in den natürlichen Farben 74

Instrumentarium.

Mikroskop. Man beziehe ein Mikroskop nur von einer bewährten Firma (z. B. Winkel-Göttingen, Zeiß-Jena, Hartnack-Potsdam, Leitz oder Seibert-Wetzlar, Reichert-Wien). Empfehlenswert ist ein mittelgroßes Stativ mit Revolver für drei Objektive, grober und feiner Einstellung und Abbéschem Beleuchtungsapparat. Außer einer Öl-Immersionslinie wähle man eine schwache und eine stärkere Trockenlinse (etwa A und D von Zeiß oder 3 und 7 von Leitz) nebst zwei Okularen (2 und 4 von Zeiß, 1 und 3 von Leitz). Die doppelt teuern apochromatischen Linsen sind nur für besonders feine Untersuchungen, namentlich Protozoenstudien, erforderlich. Das Mikroskop ist, solange es nicht benutzt wird, vor Staub und Licht geschützt aufzubewahren, am besten in dem den größeren Stativen beigegebenen Schränkchen. Schmutz ist mit einem weichen Lederlappen abzureiben. Die Linsen putze man mit weichem Leinen oder japanischem Seidenpapier und einem Tropfen absoluten Alkohol oder Benzin. Man hüte sich vor zu starkem Reiben, um die Fassung der Linsen nicht zu beschädigen.

Die beste Lichtquelle zum Mikroskopieren ist das Tageslicht (man stelle den Spiegel möglichst auf eine weiße Wolke, nie unmittelbar auf die Sonne ein). Von künstlichen Lichtquellen ist am meisten das Auerlicht zu empfehlen, fast ebensogut ist eine Nernstlampe mit matter Birne; Petroleumlicht ist schlecht. Bei Benutzung künstlichen Lichtes füge man stets in den

Beleuchtungsapparat eine kleine hellblaue Glasscheibe ein. Bei gefärbten Präparaten arbeite man mit weiter, bei ungefärbten mit enger Blende; auf richtige Einstellung der Blende kommt besonders bei ungefärbten Präparaten viel an.

Okularmikrometer, Polarisationsvorrichtung und heizbarer Objekttisch seien hier nur nebenbei erwähnt, da sie für die landläufigen Untersuchungen in der Regel nicht erforderlich sind. Erwünscht ist dagegen ein Zeichenapparat, der im selben Gesichtsfeld zugleich das mikroskopische Bild und das Zeichenpapier sichtbar macht. Jedoch ist die Benutzung eines solchen Apparates Geschmacksache; Verf. arbeitet lieber ohne solchen. Wesentlich ist für das Zeichnen mikroskopischer Präparate, daß das Zeichenbrett sich in gleicher Höhe wie der Objekttisch befindet, damit die Vergrößerung des Bildes keine Änderung erfährt. Man wähle ein möglichst glattes Kartonpapier und einen mittelharten Bleistift, am besten einen sog. Stenographenbleistift.

Messer. Ein Rasiermesser, dessen Klinge auf der unteren Seite flach geschliffen ist.

Ein Doppelmesser, am besten ein solches mit zwei Stellschrauben (erhältlich bei Mahrt und Hörning in Göttingen und bei Altmann-Berlin, Schumannstr.).

Ein mittelgroßes Skalpell.

Eine kleine, leicht gebogene Schere, eine feine, spitze Pinzette. Mehrere spitze Präparierna deln, am besten in Holzgriffen mit Vorrichtung zum Auswechseln der Nadeln. Zum Arbeiten in Säuren und Metallösungen braucht man Glasnadeln, die man sich aus Glasstab leicht selbst herstellen kann. Ein weicher Haarpinsel. Ein nicht zu schmaler Spatel aus Neusilber. Eine Anzahl Uhrgläser von etwa 5 cm Durchmesser, eine Anzahl größerer und kleinerer Präparatengläser mit gutschließenden Stopfen (einge-

riebene Glasstöpsel sind teuer und nicht unbedingt notwendig). Empfehlenswert sind Kästchen aus Glas mit innen senkrecht angebrachten Leisten zum Einsetzen der Objektträger beim Färben (erhältlich bei Altmann-Berlin). Ein graduiertes Zylinderglas zu 100—150 ccm und ein solches zu 10 ccm. Mehrere Glastrichter von 5—10 cm Durchmesser. Glasstäbe, gläserne Pipetten. Einige größere Glasschalen. Objektträger in einem der gebräuchlichen Formate und Deckgläschen von 15—18 mm Seite. Für Schnittserien sind oft größere Glasplatten erwünscht, die mit Glimmerplättchen edeckt werden (letztere in verschiedenen Größen erhältlich bei Landsberg und Ollendorff-Frankfurt a. M.-Bockenheim).

Reinigen gebrauchter Objektträger und Deckgläser geschieht, indem man sie einige Tage in (gebrauchtem) Xylol weicht und dann vorsichtig putzt. Besser ist Kochen in 10proz. Lysollösung in einem emaillierten Blechtopf (nur unter dem Abzug vorzunehmen), dann Abspülen mit kaltem Leitungswasser und Abtrocknen.

Zum vorläufigen Signieren von Präparaten dienen Fettfarbstifte oder die käufliche Glastinte.

Mikrotom. Man wende sich auch hier an eine bewährte Firma (z. B. Jung-Heidelberg, Sartorius-Göttingen, Schanze-Dresden). Die Gefriermikrotome, bei denen das Objekt durch Verstäubung von Äther oder flüssiger Kohlensäure zum Gefrieren gebracht wird, sind sog. „Hobelmikrotome"; das Messer ist an einem um eine vertikale Achse drehbaren Hebelarm befestigt und hobelt gleichsam die Schnitte vom Objekt herunter. Man nehme ein Mikrotom mit automatischer Einstellung (bei dem der Objekttisch nach jedem Schnitt selbsttätig um die gewünschte Schnittdicke gehoben wird). Sie sind schon zu verhältnismäßig *billigen Preisen* erhältlich; einige besitzen gleichzeitig

eine Vorrichtung zum Befestigen von Paraffinblöcken. Indessen sind für eingebettete Präparate die Schlittenmikrotome bei weitem vorzuziehen, für Celloidinpräparate unentbehrlich. Sie sind größer und kostspieliger als die vorerwähnten Mikrotome, aber bedeutend leistungsfähiger. Bei ihnen wird das Messer in einer horizontalen Schlittenbahn bewegt und das Objekt ebenso wie bei den Hobelmikrotomen gegen die feststehende Schnittebene des Messers gehoben. Die verschiedenen, in Gebrauch befindlichen Systeme stehen an Güte einander nicht nach; es gibt übrigens auch Schlittenmikrotome mit gleichzeitiger Vorrichtung zum Gefrieren. Die Mikrotommesser sind stets sorgfältig zu säubern unter Schonung der Schneide. Man ziehe sie öfter vorsichtig auf einem guten Streichriemen ab; zum Halten dient dabei ein Holzgriff, in dem der kleine am Ende des Messers befindliche Stiel mittels Schraube befestigt wird.

Ein Paraffinofen (auf 54—56° zu halten) ist zur Paraffineinbettung unentbehrlich. Am meisten zu empfehlen sind solche mit Gasheizung und Thermoregulator; weniger verläßlich bezüglich der Konstanz der Temperatur, aber immerhin ganz brauchbar sind solche mit Petroleumheizung. Kleine Paraffinöfen schütze man vor Zug und plötzlichem Temperaturwechsel, da sie leicht mit der Außentemperatur Veränderungen ihrer Wärme erleiden, trotz Thermoregulator. Im Notfalle kann man sich in einer geschützten Zimmerecke mit einer Petroleum- oder Spirituslampe, einem Filtrierstativ und einem Stück Blech einen Paraffinofen improvisieren.

Erwünscht ist endlich ein Brütofen (37°). Man läßt sich zweckmäßig auf den Paraffinofen ein kleines, verschließbares Metallschränkchen aufsetzen, in dem man (durch geeignete Lüftung) bequem eine der Brütwärme entsprechende Temperatur herstellen kann.

Untersuchung frischer Präparate.

Die Untersuchung am frischen Präparat sollte nie unterlassen werden, da sie einerseits eine schnelle Orientierung ermöglicht, anderseits manches zeigt, was am gehärteten Präparat nicht zu sehen ist. Man nehme immer möglichst wenig der zu untersuchenden Substanz und bringe sie außer beim Quetschpräparat nie auf einen trockenen Objektträger, sondern immer in einen Tropfen derjenigen Flüssigkeit, in welcher untersucht werden soll. Als solche diene in der Regel eine 0,9 proz. (den menschlichen Körpersäften isotonische) Kochsalzlösung. Sie ist öfter frisch zu bereiten und durch Kochen zu sterilisieren, da sich sehr bald niedere Pflanzen darin anzusiedeln pflegen. Wo es sich nicht um sehr vergängliche Zellen (z. B. Protozoen, rote Blutkörperchen) handelt, kann man auch gewöhnliches Leitungswasser nehmen. Außer der Kochsalzlösung wird gebraucht: 2—5proz. Essigsäure (hellt das Protoplasma auf, läßt die Kerne schrumpfen und besser hervortreten), 1—3proz. Kali- oder Natronlauge (löst Zellen, kollagene und Muskelfasern auf; Fett, Pigment, Konkremente, Bakterien und elastische Fasern bleiben erhalten), 5proz. Salzsäure (zum Entkalken), stark verdünnte (weingelbe) Lugolsche Lösung (Jod 1, Jodkali 2, Wasser 100) zum Mazerieren. Wenn die Lösung sich entfärbt, setze man einige Tropfen unverdünnte Lugolsche Flüssigkeit hinzu. Alle diese Lösungen verwahrt man zweckmäßig in Flaschen, an deren Stopfen ein bis auf den Boden reichender Glasstab befestigt ist, um mit ihm die Lösungen tropfenweise zu entnehmen.

Abstrichpräparat. Man streiche mit dem trockenen Messerrücken unter leichtem Druck über die Organfläche, von der man Material zu entnehmen

wünscht und bringe das an der Klinge hängende Material auf den Objektträger.

Zupfpräparat. Man zerzupfe mittelst der Präpariernadeln ein kleines Gewebstückchen so lange, bis makroskopisch kaum mehr etwas zu sehen ist (womöglich unter Zuhilfenahme der Lupe). Für manche Objekte ist die Zuhilfenahme einer Mazerationsflüssigkeit empfehlenswert. Als solche können dienen: 33proz. Alkohol (Einwirkung 24 Stunden), Müllersche Flüssigkeit (24 Stunden) und verdünnte Lugolsche Lösung (2—12 Stunden).

Quetschpräparat. Man bringe ein Gewebsteilchen trocken auf den Objektträger und breite es durch sanften Druck auf das darübergelegte Deckglas gleichmäßig in dünner Schicht aus.

Flüssigkeiten können in manchen Fällen direkt zur Untersuchung benutzt werden. Entweder man läßt einen Tropfen zwischen Objektträger und Deckglas sich in kapillarer Schicht ausbreiten, oder man benutzt die Methode des hängenden Tropfens. Ein nicht zu großer Tropfen wird auf die Mitte des Deckgläschens gebracht und ein hohlgeschliffener Objektträger, dessen Ausschnitt mit Vaselin umrandet ist, wird mit dem Ausschnitt derart über das Deckglas gelegt und etwas angedrückt, daß der Ausschnitt nach allen Seiten luftdicht abgeschlossen ist. Der Objektträger wird alsdann umgekehrt und mit dem Mikroskop zunächst der Rand des Tropfens eingestellt. Ist die zu untersuchende Flüssigkeit sehr zellarm, so läßt man sie vorher (in einem Spitzglas) sedimentieren oder zentrifugiert (kleine Zentrifugen mit Hand- oder Wasserantrieb sind schon zu billigen Preisen erhältlich).

Schnittpräparate. a) Scherenschnitte. Kleine flache Gewebspartikel werden mit der gebogenen Schere entnommen und zwischen Objektträger und Deckglas *etwas breitgedrückt*.

b) Rasiermesserschnitte. Man feuchte das Messer zum Schneiden stets an; läuft das Wasser auf der Messerklinge zusammen, ohne sie in ganzer Ausdehnung zu befeuchten, so ist die Klinge fettig und muß mit Alkohol sorgfältig geputzt werden. Das zu schneidende Organstück halte man am besten zwischen zwei Stückchen in Alkohol gehärteter Amyloidleber (Klemmleber) fest und fertige die Schnitte bei horizontaler Haltung des Messers, indem man mehr zieht als drückt, und die ganze Länge der Klinge nach Möglichkeit ausnutzt. Von der Messerklinge entfernt man den Schnitt mit einem Pinsel und bringt ihn auf den Objektträger oder in Wasser bezw. Kochsalzlösung, aus der man ihn mit dem Objektträger auffängt. Das Schneiden mit dem Rasiermesser ist mit Vorteil auch an gehärteten Objekten ausführbar, verlangt aber viele Übung. Bedeutend leichter sind

c) Doppelmesserschnitte. Das Doppelmesser ist gleichfalls fettfrei zu halten und vor dem Schneiden gut anzufeuchten. Man stelle die beiden Klingen möglichst parallel, und zwar so dicht, daß ein Spalt eben sichtbar ist, wenn man das Messer mit zugewandten Schneiden gegen das Licht hält. Je härter das Organ, desto leichter ist das Schneiden und desto enger kann der Spalt sein. Man fasse die Doppelmesser möglichst am Ende nach Art eines Fiedelbogens und schneide nie auf die Kapsel eines Organs (Leber, Niere) ein, sondern immer auf die Schnittfläche; mehr Ziehen als Drücken. Hat man eingeschnitten, so mache man noch einige kurze sägende Bewegungen, indem man das Messer nach rechts und links neigt, um den Schnitt aus dem Gewebe loszulösen. Alsdann bringe man ihn nach Öffnen des Doppelmessers in derselben Weise auf den Objektträger, wie die Rasiermesserschnitte.

d) Gefriermikrotomschnitte. Die Stücke seien nur 1—2 mm dick, da sonst die oberen Schichten,

die zuerst vom Messer getroffen werden, nicht genügend gefrieren oder erst nach Anwendung von unverhältnismäßig viel Äther bezw. Kohlensäure. (Gehärtete Präparate müssen vor dem Schneiden gut gewässert sein, insbesondere wenn es sich um Härtungsflüssigkeiten handelt, die den Gefrierpunkt herabsetzen wie Formalin und Alkohol.) Man bringe das Material mit etwas Wasser auf den Objekttisch, drücke mit einem Messergriff oder Spatel leicht an und lasse den Äther bezw. die Kohlensäure in kurzen Absätzen verdampfen. Man sei mit Äther und Kohlensäure möglichst sparsam, da zu starkes Gefrieren die Gewebe schädigt (besonders leicht bei frischen und nicht genügend fixierten Präparaten). Beim Schneiden ist darauf zu achten, daß die Schrauben, die die Messerklinge halten, fest angezogen sind. Nach dem Schneiden entferne man den in den Schläuchen sitzenden Äther bezw. die Kohlensäure, da die Gummischläuche durch den Äther leiden und die Kohlensäure unter Umständen fest wird und den Schlauch verstopft. Von der Messerklinge bringe man die Schnitte mit einem weichen Pinsel in kurz vorher gekochtes Wasser; in ungekochtem Wasser hängen sich zahllose Luftbläschen an die Schnitte (Schnitte von gehärteten Objekten bringt man am besten in 60proz. Alkohol und von diesem erst in Wasser; es ist darauf zu achten, daß man keinen Alkohol auf das zu schneidende Objekt überträgt). Von geeigneten Objekten lassen sich leicht Schnitte von 10 μ Dicke erhalten.

Fixierung und Härtung.

Die Fixierung hat den Zweck, die im Leben bezw. im Moment des Todes vorhandene Struktur der Gewebe festzuhalten. Zu diesem Zwecke werden die *Eiweißkörper* durch physikalische bezw. chemische Mittel

in feste, unlösliche Verbindungen und Modifikationen übergeführt, die sich weder in Wasser noch in schwachen Basen und Säuren, noch in Farbflüssigkeiten auflösen. Die Fixierung ist in vielen Fällen zugleich eine unentbehrliche Grundlage für die histologische Färbung. Durch die Härtung sollen die Gewebe eine zum Schneiden passende Konsistenz erhalten. Durch die meisten der im folgenden genannten Mittel werden Fixierung und Härtung gleichzeitig bewirkt. Welche der aufzuzählenden Methoden jedesmal anzuwenden ist, wird bei der Untersuchung der einzelnen Organe und Veränderungen besprochen werden. Man nehme die Stücke so frisch wie möglich und nie zu groß, damit die Flüssigkeiten gut eindringen können; man bemesse die Flüssigkeiten reichlich und sorge, daß sie von allen Seiten an die Gewebsstücke herangelangen können, indem man etwas Watte oder Fließpapier auf den Boden der zur Aufnahme bestimmten Gefäße bringt. Fixierung und Härtung lassen sich durch Bruttemperatur beschleunigen. Nach erfolgter Härtung sind die Stücke allemal (falls nicht Alkohol oder Azeton zum Härten verwandt ist) gründlich in Wasser auszuwaschen und können dann entweder mit dem Gefriermikrotom geschnitten oder zur Einbettung vorbereitet werden.

Alkohol wird in Konzentration von 70 oder 100 Proz. verwandt. Der erstere härtet langsamer, aber schonender. Aus dem 70proz. bringe man die Stücke nach 1—2 Tagen in 93proz. und nach einem weiteren Tage in absoluten Alkohol. Zur sofortigen Härtung in absolutem Alkohol nehme man nur kleine Stücke von höchstens 3 mm Dicke und wechsle den Alkohol mehrmals. Alkoholfixierung hat den Nachteil, daß zartere Gewebe stark schrumpfen, Fett größtenteils gelöst und das Hämoglobin aus den roten Blutkörperchen ausgezogen wird; in manchen Fällen ist sie jedoch unentbehrlich.

Reines Azeton wird ebenso angewandt wie absoluter Alkohol.

Formalin. Die käufliche 40proz. Formalinlösung wird fünf- bis zehnfach verdünnt und die Organstücke je nach ihrer Größe mehrere Stunden bis Tage darin gehärtet. (Gut verschließbare Flaschen, besonders, wenn man bei Brutwärme härtet, weil sonst das Formalin zu rasch entweicht!) Bei sehr stark bluthaltigen Präparaten treten mit starken Formalinkonzentrationen sehr oft störende Fällungen von Blutfarbstoff ein, die Pigmente vortäuschen können. Das Formalin ist das vorzüglichste Härtungsmittel, wenn man Gefrierschnitte zu machen beabsichtigt.

Müllersche Lösung:

Doppeltchromsaures Kali	2,5
Schwefelsaures Natron .	1
Wasser	100.

Die Härtung erfordert mehrere Wochen bis Monate, ist schonender als beim Alkohol und weniger kostspielig. Abgesehen von einzelnen besonderen Fällen wird sie heutzutage fast nur noch in Verbindung mit Formalin angewandt als

Orthsche Lösung. Sie besteht aus einem Teil Formalin auf neun Teilen Müllerscher Lösung und ist jedesmal frisch zu bereiten, da sich in einigen Tagen in ihr Niederschläge bilden. Sie fixiert vorzüglich Kernteilungsfiguren und rote Blutkörperchen und ist gleichfalls sehr brauchbar, wenn man Gefrierschnitte anfertigen will.

Sublimat fixiert ausgezeichnet, ist aber nur bei sehr dünnen Stücken anwendbar. Nach der Fixierung sind die Organstückchen sehr gründlich, mindestens 24 Stunden lang, in fließendem Wasser auszuwaschen, um die störenden Sublimatniederschläge zu entfernen. Nach dem Auswässern lege man die Präparate in 70proz. *Alkohol*, den man durch Zusatz von einigen Tropfen

offizineller Jodtinktur dunkelbraunrot gefärbt hat und den man so oft wechselt, als noch Entfärbung eintritt; erst dann kann man sicher sein, keine Sublimatniederschläge zu erhalten. Folgende Sublimatgemische sind empfehlenswert:

Konzentrierte wässerige Lösung, 3—6 Stunden.

Sublimateisessig:

Sublimat . . .	3 g
Eisessig . . .	1 ccm
Wasser . . .	100 ccm.

Das Gemisch ist schonender und verlangt 24stündige Einwirkung.

Zenkersche Lösung:

Sublimat	5
Kaliumbichromat .	2,5
Natrium sulfuricum	1
Wasser	100

werden in der Wärme gelöst. Kurz vor dem Gebrauch setzt man fünf Teile Eisessig hinzu; Einwirkung 24 Stunden.

Flemmingsche Lösung:

Eisessig	1
2 proz. Osmiumsäure	4
1 proz. Chromsäure .	15.

Die Mischung ist jedesmal frisch herzustellen, da sie sich leicht zersetzt. Die Objekte dürfen höchstens 2 mm dick sein. Einwirkungsdauer 12—24 Stunden im Dunkeln, sehr gründliches Auswaschen in fließendem Wasser. Bei der weiteren Behandlung der Objekte ist Xylol zu vermeiden. Die Methode fixiert vorzüglich Kernstrukturen. Für Kernfärbungen sind fast nur Anilinfarben anwendbar.

Kochmethode. Die Gewebsstückchen werden 1—$1^1/_2$ Minuten in kochendes Wasser eingetaucht. Die Methode ist besonders empfehlenswert zur Fixierung eiweißreicher Flüssigkeiten (Lungenödem, Nephritis,

Cysteninhalt). Nachhärtung in Formalin und Alkohol oder sofort in Alkohol von steigender Konzentration.

Altmannsche Flüssigkeit: Mischung gleicher Teile 5proz. Kaliumbichromatlösung und 2proz. Osmiumsäurelösung.

Härtung kleiner, möglichst frisch nach dem Tode entnommener Stücke 24 Stunden lang, nachher gründliches Auswaschen in fließendem Wasser. Die Methode dient zur Fixierung der Zellgranula.

Entkalkung.

Knochen oder andere kalkhaltige Gewebe müssen vor dem Schneiden entkalkt werden. Vorbedingung ist eine gute Härtung in Alkohol, Formalin oder Müllerscher Flüssigkeit. Die zu entkalkenden Objekte dürfen nicht zu groß sein, da sonst die Entkalkung der innersten Schichten zu lange Zeit in Anspruch nimmt. Die Entkalkungsflüssigkeit ist stets reichlich zu bemessen und mindestens täglich einmal zu wechseln. Die Entkalkung ist erst dann vollendet, wenn die Stücke biegsam geworden sind oder sich mit dem Messer bequem schneiden lassen (zu dieser Probe benutze man stets ein altes Messer, da die stark sauern Entkalkungsflüssigkeiten die Messerklinge angreifen). Nach vollendeter Entkalkung müssen die Stücke so lange in fließendem Wasser ausgewaschen werden, bis angedrücktes blaues Lackmuspapier sich nicht mehr rötet, da die Stücke sich sonst schlecht färben. Zur Vermeidung der leicht eintretenden Quellungen ist es besser, die Stücke vor dem Auswaschen auf 12 Stunden in eine 5proz. Kalialaunlösung zu bringen. Folgende Entkalkungsflüssigkeiten sind empfehlenswert:

5—10proz. Salpetersäure (man beachte, daß die offizinelle Salpetersäure nur 25proz. ist). Die Entkalkung erfordert je nach dem Kalkgehalt und der *Größe* der Stücke mehrere Stunden bis Wochen.

Formalin-Salpetersäure, von beiden 10 auf 100 Teile, kann auch ohne vorherige Härtung verwandt werden und wirkt wie die vorige Lösung.

Phlorogluzin-Salpetersäure entkalkt bereits in wenigen Stunden, schädigt jedoch mitunter die Gewebe, vor allem die mit den Knochen verbundenen Weichteile. Sie wird auf folgende Weise zubereitet:

1 g Phlorogluzin wird in 10 ccm reiner offizineller Salpetersäure vorsichtig (am besten unter dem Abzug!) gelöst und die entstehende rubinrote Lösung mit 50 ccm destilliertem Wasser verdünnt. Als zweite Lösung bereite man sich ein Gemisch von destilliertem Wasser und Salpetersäure im Verhältnis von 5:1. Zum Gebrauche mischt man vier Teile von Lösung II mit einem Teil von Lösung I.

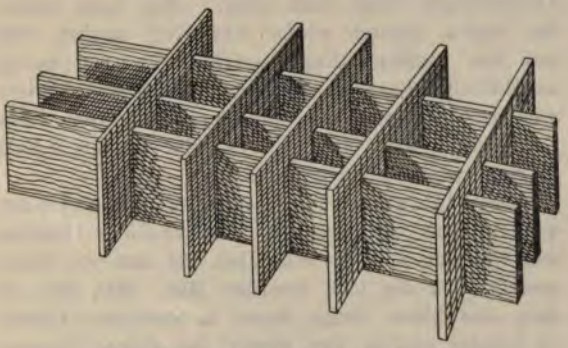
Einbettung.

Von gehärteten Objekten lassen sich in den meisten Fällen mit Rasiermesser oder Gefriermikrotom (siehe S. 13) brauchbare Schnitte gewinnen; wenn man jedoch feinere Schnitte benötigt oder wenn es sich um zarte, locker gefügte Objekte handelt, ist Einbettung erforderlich. Heutzutage werden ausschließlich die Paraffin- und Celloidinmethode angewandt, von denen jede ihre Vorzüge und Nachteile hat. Die Paraffineinbettung ist rascher und leichter auszuführen und ermöglicht die Herstellung weit dünnerer Schnitte, als bei Celloidineinbettung, wenigstens an kleinen Objekten. Hingegen ist die Celloidineinbettung schonender, mit weniger Instrumentarium ausführbar und erlaubt wegen der Durchsichtigkeit des Celloidins eine bessere Orientierung an den eingebetteten Objekten. Bei der Besprechung der einzelnen Veränderungen und Organe wird angegeben werden, wann die eine oder andere Methode den Vorzug verdient.

Paraffineinbettung. Gründliches Entwässern der gut fixierten Präparate in Alkohol von steigender Konzentration (etwa je einen Tag in 60-, 93proz. und absolutem Alkohol). Die Stücke kommen sodann in Xylol oder Chloroform (osmierte Objekte stets in Chloroform), worin sie so lange bleiben, bis sie durchscheinend geworden sind, etwa 1—2 Stunden. Zu langes Verweilen in Xylol macht die Objekte spröde und schwer schneidbar. Aus dieser Flüssigkeit bringe man sie in eine warm gesättigte Lösung von Paraffin in Xylol bezw. Chloroform für $^1/_2$—1 Stunde; das gut verschlossene Gefäß stelle man auf den Paraffinofen bezw. in den Brutschrank. Hiernach kommen die Stücke in einmal zu wechselndes Paraffin. Man halte sich zwei Sorten Paraffin vorrätig, etwa von 45^0 und 54^0 Schmelzpunkt und bringe zunächst die Objekte für 1—2 Stunden in das geschmolzene erstere, alsdann ebensolange in eine Mischung beider Paraffinsorten zu gleichen Teilen, in der die definitive Einbettung erfolgt. Im Sommer nehme man etwas mehr von dem harten Paraffin. Als Gefäße zur Aufnahme des geschmolzenen Paraffins dienen zweckmäßig kleine emaillierte Blechtöpfe mit Tülle. Man lasse das Paraffin stets langsam im Paraffinofen schmelzen und lege nicht etwa die Objekte in kurz vorher über einer Flamme geschmolzenes Paraffin, da durch zu starke Erhitzung die Färbbarkeit erheblich beeinträchtigt wird. Zum Einbetten dienen sogenannte Blockschälchen oder Vogelfuttertöpfe aus Glas, die man kurz vorher inwendig mit etwas Glyzerin bestreicht. Mit Vorteil bedient man sich auch kleiner winklig geknickter Bleistücke von

1—2 cm Höhe in der nebengezeichneten Form, die man auf eine Glasplatte setzt, und die durch gegenseitige Verschiebung die Herstellung eines verschieden großen Einbettungsraumes gestatten; noch besser ist der Gay-

lordsche Einbettungsrahmen (siehe Figur). Derselbe besteht aus einer Anzahl ineinandergreifender starker Metallblechstreifen, die ein Gitterwerk bilden und, auf eine Glasplatte aufgesetzt, die gleichzeitige Einbettung mehrerer, auch verschieden großer Objekte erlauben. Zum Zwecke des Einbettens gießt man in den betreffenden Rahmen oder Napf ein wenig Paraffin, legt mit einer heißen Pinzette das Objekt mit der Seite, von welcher geschnitten werden soll, zu unterst hinein



Gaylordscher Einbettungsrahmen.

und füllt Paraffin bis oben hin nach. Sobald sich auf der Oberfläche des Paraffins ein feines Häutchen zu zeigen beginnt, versenkt man den Rahmen bezw. Napf in ein Becken mit kaltem Wasser, um die Erstarrung des Paraffins zu beschleunigen; bei langsamer Erstarrung wird das Paraffin brüchig und zum Schneiden ungeeignet. Im kalten Wasser verbleiben die Blöcke mindestens eine halbe Stunde und können dann sofort geschnitten werden; andernfalls kann man sie mit einer stumpfen Nadel oder Messerspitze signieren und beliebig lange aufheben.

Paraffin-Schnelleinbettung. Zum Zwecke einer raschen Diagnosestellung ist es oft erforderlich, einen Paraffinschnitt innerhalb weniger Stunden herstellen zu können. Alsdann härte man das möglichst kleine Objekt in reichlich bemessenem reinem Azeton, das man zweimal erneuert, eine Stunde lang bei Brutwärme. Aus dem Azeton bringt man es sofort in einmal zu wechselndes Paraffin gleichfalls für eine Stunde und bettet in der oben angegebenen Weise ein. Die Methode ist wegen der erforderlichen reichlichen Azetonmengen nicht ganz billig. Man kann jedoch das Azeton dadurch wieder wasserfrei machen, daß man ihm geglühtes Kupfersulfat zusetzt und häufig umschüttelt. Nach mehrtägigem Stehenlassen filtriere man das Azeton durch ein doppeltes Filter. Das Kupfersulfat muß von neuem geglüht werden, sobald es eine grünliche Farbe annimmt.

Celloidineinbettung erfordert einige Übung, wenn sie gut ausfallen soll. Das käufliche Celloidin schneide man in kleine Stückchen, die man vor Staub geschützt an der Luft trocknen läßt. Man läßt sodann eine kleine Menge davon in absolutem Alkohol 24 Stunden quellen, fügt hierauf das gleiche Volumen Äther hinzu und rührt mit einem Glasstab häufig um. In einigen Stunden erhält man alsdann eine dicke, klare, schwach gelblich gefärbte Celloidinlösung. Von dieser stellt man sich mit Ätheralkohol zwei Verdünnungen her, von denen die eine etwa die Konsistenz dünnen Kollodiums, die andere die von mäßig dickem Sirup besitzt.

Die sorgfältig entwässerten Objekte kommen auf 24 Stunden in eine Mischung von Alkohol und Äther āā, darauf je nach ihrer Größe für 1—14 Tage in das dünne und zuletzt ebensolange in das dicke Celloidin. Wenn man diese Flüssigkeiten bei Brütwärme einwirken *läßt (gut verschließbare* Gefäße!), so kann man unter

Umständen kleine Objekte schon in 24 Stunden hinreichend mit Celloidin durchtränken. Zum Einbetten sind verschiedene Methoden in Gebrauch. Nach der einen bringt man das Objekt auf einen (ganz trockenen!) Holzblock (von Kork ist sehr abzuraten), umrahmt denselben mit einem Papierstreifen, der das Objekt noch ein wenig überragt, gießt den so entstandenen Raum mit dickem Celloidin aus und läßt an der Luft erstarren. Das letztere geschieht rascher und gleichmäßiger unter einer Glasglocke, unter die man zugleich ein Schälchen mit Chloroform setzt. Ist das Celloidin soweit erstarrt, daß es mit der Fingerspitze (nicht dem Fingernagel) noch eindrückbar ist ($^1/_4$ bis 1 Stunde), so bringt man den ganzen Block in 70proz. Alkohol, in dem er in mehreren Stunden Knorpelhärte annimmt; das Papier wird mit dem Messer entfernt. Mitunter erstarrt das Celloidin auch nach Stunden nicht, sondern nimmt eine gallertartige Konsistenz an; alsdann entfernt man es durch Einlegen in Ätheralkohol aus dem Objekt und bettet von neuem ein.

Muß man die Holzblöcke längere Zeit in Alkohol liegen lassen, ehe man schneidet, so diffundiert aus dem Holz Gerbsäure in den Alkohol und beeinträchtigt die Färbbarkeit der Objekte oft in erheblichem Maße. Um dies zu vermeiden, muß man Holzblöcke verwenden, die mehrere Stunden lang in zweiprozentiger Sodalösung ausgekocht sind und außerdem einige Zeit in öfter gewechseltem Alkohol gelegen haben. Statt Holz kann man auch den von den Berliner Elektrizitätswerken erhältlichen Stabilit verwenden, von dem man sich entsprechende Blöcke zurechtsägt und der die Nachteile des Holzes nicht besitzt, aber ziemlich teuer ist. Es ist daher folgende Methode vielleicht noch empfehlenswerter: Man bringe die Objekte mit einer sie gut bedeckenden Schicht dicker Celloidinlösung in ein geräumiges Glasgefäß ohne Hals und lasse durch Lüften

des Deckels das Celloidin erstarren. Ist dies soweit geschehen, daß man mit der Fingerspitze eben noch eindrücken kann, so gießt man 70proz. Alkohol auf die Oberfläche und schneide nach einigen Tagen die Objekte heraus. Das überschüssige erstarrte Celloidin kann getrocknet und abermals verwendet werden. Die Blöcke kann man nun in 70proz. Alkohol beliebig lange aufheben. Will man sie schneiden, so klebt man sie unmittelbar vorher mit starkem Tischlerleim auf einen Holzblock.

Schneiden.

Über das Schneiden nicht eingebetteter Präparate mit Rasiermesser, Doppelmesser und Gefriermikrotom siehe vorher.

Paraffinschnitte. Die Paraffinblöcke werden mit geschmolzenem Paraffin auf Holzklötze aufgeklebt und diese in die Klammer des Mikrotoms eingespannt. Wenn es nicht darauf ankommt, zahlreiche gleichmäßige und dünne Schnitte zu erhalten, kann man auch den Paraffinblock selbst in die Mikrotomklammer einspannen. Man sorge dafür, daß alle Schrauben, auch die des Mikrotommessers, fest angezogen sind. Man kann das Messer schräg oder quer zur Bahn des Mikrotomschlittens stellen; bei querer Messerstellung schneide man rasch und ruckweise, bei schräger langsam und vorsichtig. Verf. bevorzugt unter allen Umständen die schräge Messerstellung, da sie feinere Schnitte ergibt und stets gelingt, während mit der queren in vielen Fällen überhaupt keine brauchbaren Schnitte zu erhalten sind. Wichtiger ist, auf eine richtige Elevation des Messers zu achten, d. h. die Unterkante des Messerrückens soll um einige Winkelgrade höher verlaufen als die Schneide. Je weicher das Objekt ist und je schräger *das Messer zur* Bahn steht, um so größer muß der

Elevationswinkel sein. Der richtige Winkel muß vorsichtig ausprobiert werden, sofern überhaupt das Mikrotom eine Vorrichtung zur Änderung der Elevation besitzt. Ist das Messer plankonkov geschliffen, so erhält man je nach der Lage des Messers im Halter eine verschiedene Elevation; oft genügt daher schon das einfache Umdrehen des Messers, um gute Schnitte zu erhalten, während das bei der ursprünglichen Lage nicht möglich war. Wenn die Schnitte sich rollen, so schiebe man sie mit einem weichen Pinsel auf die Messerklinge hinauf. Falten sich die Schnitte beim Schneiden oder werden sie zusammengedrückt, so ist das Paraffin zu weich; man schneide im kalten Zimmer oder lege den Block kurz vor dem Schneiden noch einmal auf Eis. Umgekehrt erhält man spröde bröcklige Schnitte bei zu hartem Paraffin. Oft ist da schon durch leichtes Erwärmen (Anhauchen) des Messers Abhilfe zu schaffen; genügt das nicht, so schneide man in der Nähe des Ofens oder mit nahe herangerückter Lampe. Trennt das Messer gar keine oder nur unvollkommene Schnitte vom Block ab, so sind entweder Objekt oder Messer nicht hinreichend befestigt, die Schlittenbahn oder das Messer (Unterseite!) sind beschmutzt oder das Messer ist nicht scharf genug (Scharten). Auch kommt es vor, daß Messer mit dünnem Rücken federnd über das Objekt hinweggleiten ohne zu schneiden, namentlich, wenn sie nicht scharf genug sind und man nur das vorderste Ende des Messers benutzt. Unter Umständen ist auch eine mangelhafte Einbettung am Mißerfolg schuld. Letztere erkennt man daran, daß das Objekt weich und eindrückbar ist oder gar Flüssigkeit austreten läßt. Alsdann ist die Einbettung in umgekehrter Reihenfolge bis zum absoluten Alkohol zu wiederholen und nach gründlicher Entwässerung von neuem einzubetten.

Die angefertigten Schnitte können im Paraffin

gefärbt werden, was aber wegen der leichten Zerbrechlichkeit und Unhandlichkeit dieser Schnitte nur dann zu empfehlen ist, wenn man Alkohol durchaus vermeiden muß. Zum Färben löst man daher in der Regel das Paraffin im Xylol auf und bringt die Schnitte durch Alkohol in Wasser.

Feinere, wenig zusammenhängende Objekte, die bei dieser Prozedur leiden oder gar zugrunde gehen würden, müssen, wie überhaupt alle unter 10 μ dünnen Schnitte, vor dem Entparaffinieren aufgeklebt werden. Zu diesem Zwecke bringe man die Paraffinschnitte mit der unteren glatten Seite auf 45—50° warmes destilliertes Wasser, auf dem sie sich faltenlos ausbreiten. Das Wasser darf nicht heißer sein, da sich sonst das Paraffin löst. Aus dem Wasser fange man die Schnitte mit sorgfältig in Ätheralkohol geputzten und mit fettfreiem Tuch getrockneten Objektträgern auf (zweckmäßig läßt man eine Anzahl Objektträger bis kurz vor dem Gebrauch in Ätheralkoholmischung liegen). Das überschüssige Wasser saugt man mit Fließpapier ab, drückt die Schnitte mit mehrfach gefaltetem Leinen oder Fließpapier vorsichtig an den Objektträger an und bringt den Objektträger auf 1—2 Stunden in den Brutofen. Die Schnitte über einer Flamme an dem Objektträger anzuschmelzen ist nach des Verf.s Erfahrungen nicht ratsam, da die so behandelten Schnitte sich leichter vom Objektträger lösen. Um ein besseres Haften der Schnitte am Objektträger zu ermöglichen, kann man die Objektträger unmittelbar vor dem Gebrauch mit einer möglichst dünnen Schicht von Glyzerineiweiß bestreichen, das auf folgende Weise hergestellt wird: Man schlägt Eiereiweiß zu Schnee, filtriert und setzt das gleiche Quantum Glyzerin hinzu. Das Filtrieren dauert selbst *bei einem* einzigen Eiereiweiß tagelang und es ist *daher ratsam,* das Glyzerineiweiß fertig zu beziehen.

Stark alkalische Farblösungen bringen die Schnitte zum Quellen und lösen das Glyzerineiweiß auf; ist es in zu dicker Schicht aufgetragen, so bilden sich im Alkohol Eiweißniederschläge, die sich manchmal mitfärben. Die Eiweißglyzerinmethode ist also nicht unter allen Umständen anzuraten. Aus dem Brutofen kommen die Objektträger zur Lösung des Paraffins in Xylol, von hier weiterhin in absoluten Alkohol und in Wasser. Man tut gut, vor dem Übertragen des Alkohols das überflüssige Xylol von den Objektträgern vorsichtig abzuwischen. Überträgt man zu viel Xylol in den Alkohol, so zeigt sich beim Verbringen der Objektträger in Wasser ein feiner weißer, aus niedergeschlagenem Xylol bestehender Schleier auf den Objektträgern, der durch erneutes Eintragen in xylolfreien absoluten Alkohol beseitigt werden muß. Handelt es sich um sehr zarte Objekte, so bringe man sie nicht aus absolutem Alkohol sofort in Wasser, sondern zunächst in etwa 50proz. Alkohol, damit nicht durch die entstehenden heftigen Diffusionsströme die Objekte leiden.

Will man Serienschnitte anfertigen, so klebt man die Schnitte in der angegebenen Weise der Reihe nach auf numerierte Objektträger auf oder benutzt zum Aufkleben größere Glasplatten, die freilich zum Färben sehr unhandlich sind. Bei solchen größeren Glasplatten macht es Schwierigkeiten, die Schnitte in der richtigen Reihenfolge aus dem Wasser aufzufangen und aufzukleben. Man tut daher besser, eine Schicht warmes Wasser auf die Glasplatte zu gießen und die Schnitte sofort auf diese Wasserschicht zu bringen, wo sie sich ausbreiten und wo man sie mit der Nadel leicht ordnen kann. Das Wasser läßt man nachher vorsichtig abtropfen und behandelt weiter wie oben.

Celloidinschnitte. Hier gilt noch mehr als beim Paraffin die Regel, den das Objekt tragenden

Holzblock fest in die Mikrotomklammer einzuspannen und alle Schrauben sorgfältig anzuziehen. Ein tadellos scharfes Messer ist unerläßlich. Man stelle es möglichst schräg, damit es mehr zieht als drückt, und damit die ganze Messerklinge tunlichst ausgenutzt wird. Messer und Objekt sind während des Schneidens fortwährend reichlich mit 70proz. Alkohol zu befeuchten. Ob schnell oder langsam geschnitten werden muß, ist bei jedem Objekt auszuprobieren. Die Schnitte werden mit einem in Alkohol befeuchteten Pinsel von der Messerklinge genommen und in 70proz. Alkohol übertragen, wo sie bis zur Färbung verbleiben.

Celloidin-Serienschnitte. Auch hierfür ist Aufkleben der Schnitte der einfachste Weg, doch existieren für Celloidinschnitte keine so guten Methoden wie für Paraffin.

Olt klebt mit Gelatine auf, die durch Formalin unlöslich gemacht wird. Man löse 10 g Gelatine in 100 ccm Wasser, koche, lasse abkühlen, setze ein Hühnereiweiß zu und koche abermals $^1/_2$—1 Stunde. Filtrieren, das Filtrat muß klar sein. Zur Vermeidung von Pilzwucherungen setze man 10 ccm 5proz. Karbolsäure zu, und lasse alsdann in weithalsigem Gefäß erstarren. Die Gelatine hält sich in gut verschlossenem Gefäß monatelang. Zum Aufkleben schmelze man ein erbsgroßes Stückchen an der Messerklinge über der Flamme, streiche in dünner Schicht auf gut gereinigte Objektträger aus (die Schicht muß in 10—20 Sekunden trocknen), bringe die Schnitte aus Alkohol darauf und entferne den überschüssigen Alkohol mit Fließpapier. Dann drücke man einen in Formalin getränkten Papierstreifen mittels eines anderen Objektträgers fest an und bringe die so beklebten Objektträger auf ein bis zwei Stunden in ein verschlossenes Gefäß, auf dessen Boden mit Formalin getränkte Watte liegt.

Das Verfahren hat den Vorzug großer Einfachheit.

Doch kleben die Schnitte nicht immer tadellos fest, auch färbt sich die Gelatine durch Karmin und Anilinfarben leicht mit. Für größere Serien benutze man daher lieber das umständlichere

Verfahren von Weigert-Obregia. Man übergieße gereinigte Glasplatten mit einer dünnen Schicht (durch vorsichtiges Neigen auf der Platte verteilen, den Rest in die Flasche zurücktropfen lassen) folgender Mischung:

Lösung von gepulvertem Kandiszucker (1 : 1)	300 ccm
80 proz. Alkohol	200 „
Dextrinlösung (1 : 1)	100 „

und lasse einige Stunden im Brutofen trocknen. Vor dem Schneiden fertigt man sich Streifen von Klosettpapier, deren Breite die der aufzulegenden Schnitte etwa um das Doppelte übertrifft. Der Schnitt wird mit dem Pinsel dicht an die Messerschneide geschoben (zu reichlichen Alkohol absaugen!), ein Papierstreifen unter leichter Anspannung mit seinem linken Ende von oben her auf den Schnitt gelegt und der Schnitt nach links hin, d. h. über die Schneide des Messers hinaus, von der Messerklinge abgezogen. Der folgende Schnitt kommt immer an die rechte Seite des vorhergehenden. Während des Schneidens sind die bereits auf Papierstreifen befindlichen Schnitte dadurch feucht zu erhalten, daß man sie auf alkoholbenetztes Fließpapier legt. Die Streifen legt man (mit den Schnitten nach unten) in der richtigen Reihenfolge auf die vorher präparierten Glasplatten auf, trocknet mit doppelt gelegtem Fließpapier die Platte ab und entfernt die Streifen vorsichtig. Die Schnitte haften fest an der Zucker-Dextrinschicht. Nun gießt man vorsichtig eine dünne Celloidinschicht auf (Celloidin 10, Alkohol, Äther āā 100) und bringt die Platte, sobald das Celloidin erstarrt ist, in Wasser, in dem sich die

Zuckerschicht löst. Die die Schnitte enthaltende Celloidinhaut hält alle Färbeprozeduren aus.

Sehr einfach kann man erfahren, wenn es sich um bereits durchgefärbte Blöcke handelt. Man befeuchtet Objekt und Messer mit einer Mischung von drei Teilen Origanumöl auf einen Teil absoluten Alkohol und bringt die Schnitte sofort in der gewünschten Reihenfolge auf Objektträger oder Glasplatten, wo sie nach Abtupfen des Öls in Balsam eingeschlossen werden.

Allgemeines über Färbung und Konservierung von Schnittpräparaten.

Obwohl die Färbemethoden eine wesentliche Erleichterung für die mikroskopische Untersuchung abgeben, vergesse man nicht, daß gefärbte Präparate nicht immer der Wirklichkeit genau entsprechen, daß sie vielmehr allerlei Veränderung erlitten haben, die teils durch die Prozeduren der Einbettung, teils durch die Färbung selbst verursacht sind. Man unterlasse daher niemals einen Vergleich mit dem frischen Präparat, um so weniger, als das frische Präparat manches zeigt, was im gefärbten nicht zur Darstellung kommt.

Man beziehe stets nur gute Farbstoffe (am besten von Grübler-Leipzig), bereite die Lösungen grundsätzlich nur mit destilliertem Wasser und verwende nur peinlich saubere Gefäße; auch beachte man genau die Herstellungsvorschriften der Farblösungen. Kleine Versehen in der einen oder anderen Richtung bedingen oft ein Mißlingen der Färbung. Es ist wünschenswert, jedoch nicht immer notwendig, die Farblösungen vor dem jedesmaligen Gebrauch zu filtrieren, auf alle Fälle aber filtriere man sie von Zeit zu Zeit; wo eine jedesmalige Filtrierung unbedingt erforderlich ist, wird es *im folgenden* angegeben werden. Einzelne Schnitte

färbt man in Uhrschälchen oder Blockschälchen und überträgt sie mit Nadeln aus einer Flüssigkeit in die andere; für aufgeklebte Schnitte bedient man sich zweckmäßig der eingangs (S. 9) erwähnten Glaskästchen. Man sorge dafür, daß die Schnitte gut ausgebreitet in der Farblösung liegen und ganz darin untergetaucht sind, damit die Färbung gleichmäßig ausfällt. Nach der Färbung ist in der Regel ein gründliches Auswaschen in Wasser (am besten in destilliertem Wasser) angezeigt, besonders nach der Verwendung von stark wirkenden Reagentien, wie Säuren und Alkalien. Außer den Farblösungen kommen verschiedenartige Differenzierungsmittel zur Verwendung. Das Gebräuchlichste ist der im folgenden mehrfach erwähnte Salzsäurealkohol, eine 1proz. Lösung von offizineller Salzsäure in 70proz. Alkohol.

Die gefärbten und nötigenfalls in Wasser ausgewaschenen Schnitte bedürfen eines Aufhellungsmittels, um mit Vorteil untersucht werden zu können. Dürfen die Präparate nicht mit absolutem Alkohol in Berührung kommen, so wählt man hierzu Glyzerin oder eine konzentrierte Lösung (1:2) von Kalium aceticum in Wasser. Die Schnitte werden aus Wasser mit dem Objektträger aufgefangen, das Wasser mit Fließpapier abgetupft und mit dem Glasstab ein Tropfen der genannten Flüssigkeiten aufgesetzt. Will man die Schnitte in diesen Flüssigkeiten konservieren, so müssen die Deckgläser mit Krönigschem Deckglaskitt oder mit Asphaltlack umrandet werden; dringt noch Flüssigkeit an irgend einer Stelle neben dem Lack nach außen, so ist sie sorgfältig mit absolutem Alkohol abzuputzen und der Lacküberzug entsprechend zu verstärken. In der Regel werden die gefärbten Präparate in absolutem Alkohol entwässert (ein bis zwei Minuten, im Alkohol hin und her bewegen) und sodann aufgehellt in Xylol, Origanumöl, Nelkenöl oder Bergamottöl.

Zur Konservierung dient in Xylol gelöster Kanadabalsam. Man bringe die Schnitte aus dem Xylol (oder Öl) mit dem Spatel auf den Objektträger oder fange sie lieber mit dem Objektträger aus dem Xylol auf. Hat der Schnitt im Xylol weiße Wolken abgegeben oder zeigt er, gegen einen dunkeln Untergrund gehalten, weißliche Flecken, so enthält er noch Wasser und muß in absoluten Alkohol zurück. Nachdem das Xylol oder Öl durch vorsichtiges Abtupfen mit Fließpapier entfernt ist, bringe man mit einem Glasstab einen Tropfen (dickflüssigen) Balsam auf den Schnitt, lege ein Deckglas auf, das den Schnitt in ganzer Ausdehnung bedecken muß, und beschwere sodann das Deckglas für $^1/_2$—1 Stunde mit einem Bleistückchen; sehr geeignet sind hierzu alte Gewehrschosse. Unterläßt man die Belastung der Deckgläser, so liegt der Schnitt nicht glatt dem Objektträger an und beherbergt öfter kleine Luftbläschen, beides für die Untersuchung sehr störende Umstände. Celloidinschnitte können nicht auf diese Weise konserviert werden, da absoluter Alkohol das Celloidin in wenigen Minuten löst. Man entwässert daher in 96proz. Alkohol und hellt auf in Karbolxylol (Xylol 3, kristallisierte Karbolsäure 1), das das noch vorhandene Wasser aufnimmt. Zu beachten ist jedoch, daß die Schnitte oft schon bei kurzem Aufenthalt in Karbolxylol sich runzeln und daß die meisten Anilinfarben durch das Karbol ausgezogen werden. Man kann, um diesen Mißstand zu vermeiden, Origanumöl verwenden, das ebenfalls weniger gegen Wasser empfindlich ist als reines Xylol. Will man das Celloidin auflösen, so benutze man Nelkenöl, das übrigens gleichfalls die Anilinfarbstoffe angreift. Bei osmierten (z. B. nach Flemming gehärteten) Präparaten ist Xylol ganz zu vermeiden. Man nehme eines der genannten Öle und konserviere in xylolfreiem, in der Wärme gelösten Kanadabalsam.

Kernfärbungen.

Hämatoxylin nach Böhmer.

10proz. Lösung von Hämatoxylin in absolutem Alkohol . . . . . 10 ccm
10proz. Lösung von Alaun im warmen destillierten Wasser (nach Erkalten filtriert) . . . 200 ccm.

Die Lösung muß mindestens acht Tage in einem weithalsigen Gefäß, am besten in einer flachen Schale, unter Luftzutritt reifen, ehe sie zum Färben verwandt wird; nach dem Reifen filtrieren. Die Färbung ist bei jeder beliebigen Fixierung anwendbar. Man färbe 2—10 Minuten und bringe die Schnitte sodann in Brunnenwasser, in dem sie infolge seiner natürlichen Alkalescenz in 5—20 Minuten eine blaue Farbe annehmen. Ist das Wasser nur wenig alkalisch, so kann man die Bläuung durch Zusatz von Spuren eines Alkali (am besten ein paar Tropfen verdünnter Ammoniaklösung) beschleunigen. Das zur Differenzierung in der Färbetechnik vielfach verwandte Lithium carbonicum ist nicht zu empfehlen, da sich bei seiner Anwendung in den Schnitten leicht kleine Kristallniederschläge bilden.

Die Farblösung ist monatelang haltbar und kann immer wieder benutzt werden, sie wird mit dem Alter immer besser. Alte Lösungen färben oft momentan. Wird das Protoplasma (oder das Celloidin) zu stark mitgefärbt, so kann man dem durch kurzes Abspülen in Salzsäurealkohol unmittelbar nach der Färbung leicht abhelfen.

Hämatoxylin nach Ehrlich. Lösung I:

Hämatoxylin . . 2 g
Absoluter Alkohol 60 ccm.

Lösung II: Konzentrierte Lösung von Alaun in Glyzerin und destilliertem Wasser āā 60 ccm. Beide

Lösungen werden gemischt und müssen ebenso wie das Böhmersche Hämatoxylin vor dem Gebrauch mindestens acht Tage unter Luftzutritt reifen; filtrieren. Die Farblösung wird genau wie die vorige benutzt; sie färbt noch etwas intensiver.

Hämatoxylin nach Weigert. Lösung I:

1proz. Hämatoxylinlösung in 96proz. Alkohol.

Lösung II:

Liquor ferri sesquichlorati	4	ccm
Destilliertes Wasser . .	95	„
Offizinelle Salzsäure . .	1	„

Unmittelbar vor dem Gebrauch mischt man gleiche Teile beider Lösungen. Die Lösung wird schwarz und hält sich höchstens 1—2 Tage. Sie färbt fast momentan, nachher Auswaschen in Brunnenwasser. Besonders geeignet zur Kombination mit der van Giesonschen Methode.

Alaunkarmin. 1 g Karmin wird in 100 ccm einer kochenden 5proz. Alaunlösung aufgelöst; nach dem Erkalten filtriern. Da die Lösung leicht schimmelt, so setze man $^1/_2$ ccm flüssige Karbolsäure hinzu.

Härtung beliebig. Färbung 10 Minuten oder länger, dann gründliches Auswaschen.

Lithionkarmin. 2,5—5 g Karmin werden in 100 ccm kaltgesättigter Lösung von Lithium carbonicum gelöst. Aufkochen, filtrieren.

Härtung beliebig, am besten gelingt die Färbung bei Alkoholhärtung, schlechter bei Härtung in chromsauren Salzen. Man färbt $^1/_2$—15 Minuten (infolge der verschiedenen Qualität der käuflichen Karminsorten färben die Lösungen sehr ungleich stark). Aus dem Karmin kommen die Schnitte zum Differenzieren in *Salzsäurealkohol,* bis die Kerne sich scharf von dem

blaßroten Protoplasma abheben (einige Sekunden bis mehrere Stunden). Gründliches Auswässern.

Saffranin. Man verwendet eine konzentrierte wässerige oder eine zur Hälfte mit Wasser verdünnte konzentrierte alkoholische Lösung (jedesmal vor dem Gebrauch erst verdünnen) und färbt 24 Stunden. Nach Abspülen in Wasser differenziert man in 70proz. Alkohol, dem man ein wenig Salzsäurealkohol zusetzen kann. Die Färbung ist bei jeder Härtung anwendbar, auch nach Härtung in Flemmingscher Lösung, bei der alle übrigen Kernfärbungen mehr oder weniger versagen.

Ähnlich wie Saraffin lassen sich auch andere Anilinfarben, insbesondere Fuchsin, Methyl- und Gentianaviolett, Methylenblau und Vesuvin (Bismarckbraun) verwenden. Es genügt bei diesen Farben auch schon eine kürzere Einwirkungsdauer. Vesuvin färbt auch die Kerne in konzentrierter alkoholischer Lösung (was die andern aufgezählten Farben nicht oder nur mangelhaft tun); der Farbstoff ist daher wichtig für solche Objekte, die mit Wasser nicht in Berührung kommen dürfen.

Durchfärbung ganzer Stücke.

Das Durchfärben ganzer Stücke ist nur dann angebracht, wenn man eine große Zahl von Schnitten braucht und sicher ist, keine anderweitigen Färbungen anwenden zu müssen. Die durchzufärbenden Stücke müssen gut fixiert und gehärtet und dürfen nur 3 bis 6 mm dick sein, damit die Farblösung gehörig eindringt. Einwirkungsdauer je nach Dicke der Stücke und Art der Farblösungen 2—6 Tage. Nach der Färbung sind die Stücke so lange in öfter zu wechselndem destilliertem Wasser auszuwaschen, bis sie keine Farbstoffwolken mehr abgeben.

Empfehlenswert ist die oben erwähnte alkoholische

Vesuvinlösung, ferner eine Mischung von 4 Teilen Alaunkarmin mit 1 Teil 96proz. Alkohol (filtrieren). Schridde empfiehlt folgende Karminlösung: 5 g Kalialaun werden unter Erwärmen in 100 ccm Wasser gelöst; erkalten lassen, filtrieren. Hierzu 1 g Karmin, einige Minuten kochen, erkalten lassen, filtrieren. Mit dieser Lösung ist auch gleichzeitige Färbung und Fixierung möglich, indem man die Stücke 3—4 Tage lang bei 37° in einem Gemisch von 9 Teilen Schriddes Alaunkarmin auf 1 Teil Formalin härtet. Alsdann werden die Stücke 24 Stunden in fließendem Wasser ausgewaschen und kommen weiterhin auf 12 Stunden in eine Mischung aus 200 Teilen 75proz. Alkohol und 1 Teil 25proz. Ammoniaklösung. Hierauf Nachhärtung in Alkohol und Einbettung in Paraffin.

Darstellung von Kernstrukturen und Kernteilungsfiguren.

Vorbedingung ist Härtung in möglichst lebenswarmem Zustande. Am empfehlenswertesten sind Flemmingsche Lösung und Sublimatessigsäure, weniger gut ist Formalin. Färbung mit Anilinfarben (Saffranin, Methylviolett), ferner mit

Heidenhains Eisenalaunhämatoxylinfärbung.

1. Sublimathärtung vorzuziehen. Die Schnitte werden $^1/_2$—2 Stunden in einer 1,5proz. Lösung von schwefelsaurem (violettem!) Eisenammoniakoxyd gebeizt.

2. Abspülen in Wasser, Färben in 0,5proz. wässeriger Hämatoxylinlösung $^1/_2$—12 Stunden.

3. Abspülen in Leitungswasser, Differenzieren in der anfänglich genannten Eisenalaunlösung, bis die tiefschwarzen Schnitte sich aufgehellt haben und schwarzblau bis blau geworden sind.

4. Abermaliges Abspülen in Wasser.

Kerne und Polkörperchen schwarz, achromatische Spindeln und Zellgrenzen grau. Die Färbung läßt sich mit Vorteil mit der van Giesonschen Methode (siehe diese) kombinieren.

Protoplasmafärbungen.

In Verbindung mit Hämatoxylin wird in der Regel das Eosin, bei Karminfärbungen die Pikrinsäure zur Tinktion des Protoplasmas angewandt, beide am besten in verdünnter alkoholischer Lösung. Man gebe von einer konzentrierten alkoholischen Lösung eines der beiden Stoffe tropfenweise in 96proz. Alkohol, bis derselbe eine rosarote bezw. hellgelbe Farbe angenommen hat. Die mit Hämatoxylin bezw. Karmin gefärbten Schnitte kommen vor dem Entwässern ein bis zwei Minuten in diese Lösung.

Außer dem Zellprotoplasma färben sich mit diesen Farbstoffen die Fasern des Bindegewebes, die roten Blutkörperchen und die Muskelfasern. Eine besonders hervortretende Färbung der letzteren kann man dadurch erzielen, daß man nicht die eben beschriebenen alkoholischen Lösungen verwendet, sondern die Schnitte nach dem Entwässern längere Zeit ($^1/_2$—1 Stunde) in Xylol oder Bergamottöl liegen läßt, in dem man eine Spur Eosin bezw. Pikrinsäure aufgelöst hat.

Van Giesonsche Färbung. Härtung beliebig, am besten und haltbarsten ist die Färbung bei Alkoholhärtung.

1. Färbung der Schnitte mit Weigertschem Hämatoxylin oder Überfärbung (20 Minuten) mit einer andern Hämatoxylinlösung.

2. Auswaschen in Leitungswasser.

3. Färben $^1/_2$—1 Minute in konzentrierter wässeriger Pikrinsäurelösung, der man so viel konzentrierte

wässerige Säurefuchsinlösung zugesetzt hat, daß ungefähr Portweinfarbe entsteht.

4. Auswaschen in Leitungswasser, bis der gelbe Farbton in einen bräunlichen umschlägt (etwa $^1/_2$ Min.), Entwässern in absolutem Alkohol (nicht zu lange!).

Die Kerne sind bei Anwendung von Weigerts Hämatoxylin blauschwarz, bei den andern Hämatoxylinlösungen braun bis blaubräunlich. Muskelfasern, elastische Fasern und rote Blutkörperchen sind gelb, bei Verwendung von Weigerts Hämatoxylin auch die Neuroglia, ferner Amyloid. Bindegewebe und Hyalin sind rot, die Neuroglia bei Verwendung Böhmerschem oder Ehrlichschem Hämatoxylin rot bis gelblichrot. Die roten Farbtöne bleichen mit der Zeit aus; am längsten halten sie sich in Alkoholpräparaten.

Darstellung von Protoplasmastrukturen.

Altmannsche Zellgranula. 1. Fixierung möglichst rasch nach dem Tode in Altmannschem Gemisch.

2. Mehrstündiges Auswaschen in fließendem Wasser, Nachhärten in Alkohol, Einbetten in Paraffin.

3. Färbung der aufgeklebten, möglichst dünnen Schnitte unter Erwärmen (bis zur Dampfentwicklung) in folgender Lösung:

Anilinwasser	100
Säurefuchsin	20.

(Bereitung des Anilinwassers vgl. bei der Gramschen und der Weigertschen Fibrinfärbemethode S. 68 bezw. S. 42.)

4. Nach dem Erkalten Abspülen mit einer Mischung von 1 Teil konzentrierter alkoholischer Pikrinsäurelösung auf 20 Teile Wasser.

5. Nochmaliges Aufgießen der Pikrinlösung und vorsichtiges Erwärmen derselben auf dem Paraffinofen 40—60 Sekunden lang.

6. Entwässern in absolutem Alkohol. Zellgranula tiefrot (bezw. durch Osmium geschwärzt), übriges Zellprotoplasma hellgelb, Kerne farblos.

Polychromes Methylenblau (nach Unna). 1. Härtung in Alkohol oder Azeton (andere Härtungen sind dem guten Ausfall der Färbung mehr oder weniger hinderlich).

2. Färben in der von Grübler-Leipzig fertig zu beziehenden Farblösung $^1/_2$—12 Stunden.

3. Abspülen in destilliertem Wasser.

4. Differenzieren in Unnas Glyzerinäthergemisch (gleichfalls von Grübler-Leipzig zu beziehen) 1—10 Minuten, bis der Schnitt hellblau geworden ist. Das Glyzerinäthergemisch wird zweckmäßig um das zwei- oder dreifache mit destilliertem Wasser verdünnt, damit die Differenzierung besser zu kontrollieren ist.

5. Gründliches Auswaschen in destilliertem Wasser.

6. Möglichst kurzes Entwässern in Alkohol oder besser in Azeton.

Zellkerne blaßblau, Plasmazellengranula dunkelblau, Mastzellengranula, Schleim und Amyloid rot. Die Plasmazellen sind ferner gut darstellbar durch die

Pyronin-Methylgrünfärbung. 1. Härtung in absolutem Alkohol, Färben 10 Minuten in folgendem Gemisch:

Methylgrün	0,15
Pyronin	0,25
Alkohol	2,5
Glyzerin	20,0
0,5 proz. Karbolwasser	100,0.

2. Kurzes Differenzieren und Entwässern in Alkohol.

Kerne grün, Protoplasma der Plasmazellen leuchtend rot.

Vitale und supravitale Färbung. Zum Studium der Zellgranula am überlebenden Objekt unter-

suche man in einer mit Neutralrot gesättigten physiologischen Kochsalzlösung oder in einer 0,5—1proz. Lösung von Methylenblau in physiologischer Kochsalzlösung.

Bindegewebsfärbungen.

1. Kollagene Fasern. Färben sich nach van Gieson rot. Elektive Färbungen sind die von Bielschowsky (vergl. Methoden der Achsenzylinderfärbung beim Nervengewebe S. 58) und die von

Mallory. 1. Fixieren in Sublimat oder Zenkerscher Lösung.

2. Gefrierschnitte oder Paraffineinbettung.

3. Färben in 0,1proz. wässeriger Säurefuchsinlösung 1—3 Minuten.

4. Abspülen in Wasser.

5. Beizen in 1proz. wässeriger Phosphormolybdänsäurelösung, 1 Min.

6. Abspülen in zweimal zu wechselndem Wasser.

7. Färben 2—20 Minuten in folgender Lösung:

Wasserlösliches Anilinblau (Grübler)	0,5
Orange G (Grübler)	2,0
Oxalsäure	2,0
Wasser	100,0

8. Abspülen in Wasser. Ist die Färbung zu intensiv ausgefallen, so kann man dem durch kurzes Differenzieren in Salzsäurealkohol abhelfen (worunter freilich die Färbung aller derjenigen Teile leidet, die nicht zum Bindegewebe gehören).

Kollagene Fasern tiefblau, oft die feinsten Fäserchen überraschend deutlich sichtbar; blau sind ferner Amyloid, Schleim und Hyalin. Kerne und Protoplasma, Fibrin, elastische Fasern, Achsenzylinder, Neuroglia, glatte Muskelfasern und Hornsubstanzen sollen rot, *Erythrozyten* und Markscheiden gelb sein; in der Regel *sind sie jedoch* nur mangelhaft gefärbt.

2. Elastische Fasern. Härtung beliebig, am besten in Alkohol oder Sublimat. Gefrier- oder Paraffinschnitte, Celloidin ist weniger zu empfehlen. Die von Weigert angegebene Farblösung wird folgendermaßen bereitet:

Eine Lösung von 2 g Fuchsin und 4 g Resorzin in 200 ccm Wasser bringt man in einer Porzellanschale zum Kochen und setzt während des Siedens unter Umrühren 25 ccm Liquor ferri sesquichlorati hinzu. Unter fortwährendem Umrühren läßt man noch 2—5 Minuten kochen. Nach dem Erkalten filtrieren. Den auf dem Filter sich sammelnden, schwarzblauen Niederschlag wäscht man mit einigen 100 ccm destilliertem Wasser und läßt ihn alsdann trocknen. Das Filter mit dem anhaftenden Niederschlag bringt man nunmehr in die inzwischen getrocknete Schale, in der vorher die Mischung gekocht worden war, gießt 200 ccm 93proz. Alkohol auf und kocht einige Minuten unter beständigem Umrühren, wobei man das Filtrierpapier herausfischt. Alsdann läßt man Erkalten, filtriert, füllt mit Alkohol wieder auf 200 ccm auf und setzt 4 ccm Salzsäure hinzu. Die Lösung ist auch fertig von Grübler zu beziehen und ist monatelang brauchbar.

Man färbt 5—20 Minuten (frische Lösungen färben nicht so rasch wie ältere), differenziert in Salzsäurealkohol und wäscht in Wasser aus.

Die elastischen Fasern sind schwarzblau gefärbt; Knorpel färbt sich in der Regel mit. Eine Kernfärbung mit Karmin kann man vorausschicken oder nachfolgen lassen. Auch eine Nachfärbung nach der van Giesonschen Methode ist möglich.

Nimmt man statt des Fuchsins bei Bereitung der Farblösung Saffranin bezw. Vesuvin, so erhält man eine Lösung, die die elastischen Fasern rot bezw. braun färbt, und von denen besonders die rote zur *Kombination mit* Hämatoxylinfärbungen geeignet ist.

(In frischem Zustande untersucht man auf elastische Fasern durch Zusatz von Natronlauge; die elastischen Fasern bleiben erhalten, während die kollagenen sich lösen.)

Untersuchungsmethoden für pathologische Produkte.

1. Fibrin.

In frischem Zustande zu untersuchen in Zupfpräparaten.

Nach der van Giesonschen Methode färbt sich Fibrin gelb. Eine elektive Färbung ist die von Weigert. Sie gelingt nur bei Alkoholhärtung, bei andern Härtungen schlecht (Formalin) oder gar nicht (chromsaure Salze). Paraffineinbettung ist vorzuziehen.

Man färbt mit Anilinwassermethyl- oder Gentianaviolett, das auf folgende Weise bereitet wird: 10 ccm Anilinöl werden mit 100 ccm Wasser mehrere Minuten sehr gründlich geschüttelt; dann läßt man 10—20 Minuten absetzen und filtriert durch ein gut mit Wasser angefeuchtetes Filter. Zu 90 ccm des klaren Filtrates, das keine Öltröpfchen mehr enthalten darf, setzt man 10 ccm konzentrierter alkoholischer Gentianaviolettlösung. Die Mischung, die sich nur etwa acht Tage hält, ist vor dem jedesmaligen Gebrauch zu filtrieren.

1. Die mit Karmin vorgefärbten Schnitte werden 5—10 Minuten in der Farblösung gefärbt, hierauf in ~~Wasser~~ abgespült. Sind die Schnitte nicht bereits aufgeklebt, so fange man sie jetzt aus dem Wasser mit dem Objektträger auf und drücke sie mit einer vierfachen Lage Fließpapier vorsichtig an.

2. Aufgießen von Jodjodkaliumlösung (Jod 1, Jodkalium 2, Wasser 300) 2–3 Min.

Weigert:
24 Bl. Karmen, [illegible]!
← [illegible]

3. Abgießen der Lösung und Abtrocknen mit Fließpapier.

4. Differenzieren in Anilinxylol (Anilin 2, Xylol 1) bis keine blauen Farbstoffwolken mehr abgegeben werden (man tut gut, die Differenzierung unter dem Mikroskop von Zeit zu Zeit zu kontrollieren).

5. Gründliches Auswaschen in mehrmals zu wechselndem Xylol. Wird das Anilin nicht gründlich durch Auswaschen mit Xylol entfernt, so färbt sich später allmählich der Balsam braun und das Fibrin entfärbt sich.

Das Fibrin ist dunkelblau gefärbt. Sehr oft bleiben auch kollagene Fasern und Knorpel gefärbt.

2. Schleim.

Bei Zusatz von 4—5proz. Essigsäure zu frischen Präparaten tritt im Schleim eine körnige und fädige Gerinnung auf (Unterschied von Pseudomuzin).

Für die Färbeverfahren empfiehlt sich am meisten Alkoholhärtung, auch Sublimathärtung gibt gute Resultate. Einbetten in Paraffin ist anzuraten, da das Celloidin sich meistens mitfärbt. Mit polychromen Methylenblau (siehe S. 39) oder mit halbgesättigter wässeriger Thionin- oder Kresylviolettlösung färbt sich Schleim rot bis rotviolett. Die Färbung tritt am schönsten hervor, wenn man die Schnitte nach Abspülen in destilliertem Wasser in einer gesättigten Lösung von Kalium aceticum (1:2) untersucht; Alkoholbehandlung schädigt den roten Farbenton, etwas weniger Behandlung mit Azeton.

Eine gute Färbung erhält man auch mit Mucikarmin, das am besten fertig von Grübler-Leipzig zu beziehen ist. Die käufliche Lösung wird unmittelbar vor dem Gebrauch mit Brunnenwasser zehnfach verdünnt. Färbedauer 5—10 Minuten, Abspülen in Wasser.

Das Mucikarmin soll nur den Schleim (rot) färben,

färbt es auch die Kerne, so enthält es freie Säure, die man vorsichtig durch tropfenweisen Zusatz einer dünnen Sodalösung neutralisieren muß. Eine Kernfärbung mit Hämatoxylin kann man vorausschicken.

3. Amyloid.

Ist in frischem Zustande an seiner glänzenden Beschaffenheit und seiner ziemlich großen Resistenz gegen dünne Säuren und Laugen kenntlich. Die älteste und sicherste Farbreaktion ist die mit Jodjodkaliumlösung, die das Amyloid mahagonibraun, das übrige Gewebe gelb färbt; ein geringer Zusatz von Essigsäure begünstigt den Eintritt der Reaktion. Die Reaktion ist auch an gehärteten Präparaten ausführbar, aber in keinem Falle länger als einige Stunden haltbar.

Jodschwefelsäurereaktion. Die Schnitte (Doppelmesserschnitte oder Gefrierscheite) werden mit stark verdünnter (weingelber) Jodjodkaliumlösung mehrere Minuten behandelt, alsdann läßt man vom Rande des Deckglases einen Tropfen konzentrierte Schwefelsäure zufließen. Das Amyloid wird blau oder violett, die Färbung ist gleichfalls nicht haltbar.

Methylviolettreaktion. 1. Färben 2—5 Minuten in 1proz. wässeriger Methylviolett- oder Gentianaviolettlösung.

2. Abspülen in 2proz. Essigsäure 2—3 Minuten.

3. Gründliches Auswaschen in destilliertem Wasser.

4. Untersuchen in gesättigter wässeriger Lösung von Kalium aceticum.

Amyloid rot, übriges Gewebe blau. Die Präparate sind haltbar; sie müssen zur Konservierung mit Lack umrandet werden.

Dauerpräparate von gehärtetem Material lassen sich auch mit polychromen Methylenblau herstellen. *Am günstigsten* ist Formalinhärtung. Besser als Diffe-

1. 5 - 10 [illegible]

2. [illegible]

renzierung in Glyzerinäther ist nach Schmorl Differenzierung in $^1/_2$proz. Essigsäure 10—20 Sekunden und alsdann in halbgesättigter Alaunlösung 2—5 Minuten. Aus dieser kommen die Präparate sofort in absoluten Alkohol. Bei Anwendung der van Giesonschen Methode wird Amyloid gelb, mit Sudan oder Fettponceau rosa.

Die Corpora amylacea geben zum Teil die charakteristische Amyloidreaktion mit Jod und den genannten Anilinfarben. Ein anderer Teil verhält sich bezüglich der Farbreaktion wie hyaline Substanzen. Mitunter sind die Corpora amylacea auch mit Kernfarbstoffen (Hämatoxylin, Karmin) gut tingierbar.

4. Hyalin und Kolloid.

Lösen sich nicht in schwachen Säuren und Laugen, dagegen wohl in starken.

Härtung am besten in Alkohol. Färben sich stark mit allen sauren Anilinfarben. Mit der Weigertschen Fibrinmethode sind sie in der Regel gut darstellbar. Mit der van Giesonschen Methode wird Hyalin rot, Kolloid hingegen gelb bis orangerot; doch ist dieser Unterschied kein absolut sicherer und maßgebender.

5. Hornsubstanzen.

In frischem Zustande stark lichtbrechend und gleichfalls ziemlich resistent gegen dünne Säuren und Laugen.

Härtung beliebig, am besten in Formalin oder Alkohol. Nach der van Giesonschen Methode wird Horn gelb, mit der Gramschen oder der Weigertschen Fibrinmethode läßt es sich blau färben. Eine Rotfärbung kann man erzielen, wenn man Formalinpräparate mit der Malloryschen Bindegewebsfärbemethode behandelt.

6. Glykogen.

Ist in Wasser leicht löslich und diffundiert nach dem Tode ziemlich rasch. An frischen Präparaten gelingt indessen zuweilen der Nachweis in Doppelmesserschnitten (mit trockenem Messer schneiden), wenn man die Schnitte in Jodgummi (1 Teil Jodjodkaliumlösung, 100 Teile Gummischleim) einschließt und untersucht. Das Glykogen färbt sich braun.

Besser ist möglichst baldige Härtung kleiner (mit trockenem Messer herausgeschnittener) Stücke in absolutem Alkohol, Celloidineinbettung (nicht Paraffin!).

Langhanssche Methode: Färben 5—10 Minuten in Jodjodkaliumlösung, Entwässern in einem Gemisch von 1 Teil Jodtinktur auf 4 Teile absolutem Alkohol. Die Präparate sind nur wenige Monate haltbar.

Nach Lubarsch kann man auch die Weigertsche Fibrinfärbemethode benutzen, wenn man recht konzentriertes Anilinwassergentianaviolett benutzt (20proz. statt 10proz. Zusatz von alkoholischer Gentianaviolettlösung zum Anilinwasser).

Die schönsten Bilder gibt die Methode von Best.*) Man gebraucht dazu folgende Kaliumkarminlösung:

Karmin	2
Kalium carbonicum	1
Chlorkalium (nicht chlorsaures Kali)	5
Destilliertes Wasser	60.

Einige Minuten kochen (Vorsicht wegen des Überschäumens); nach dem Erkalten 20 ccm Liquor Ammonii caustici zusetzen. Die Lösung ist vor dem Gebrauche zu filtrieren und hält sich in gut verschlossener Flasche im Winter zwei Monate, im Sommer drei Wochen.

1. Vorfärben mit Böhmerschen Hämatoxylin.

---

*) *Zeitschr. f.* wiss. Mikrosk. Bd. 23 H. 3.

2. Färben fünf Minuten in folgender Mischung:

Kaliumkarminlösung	2
Liquor ammoni caustici	3
Methylalkohol	3.

(Die Mischung hält sich in verschlossener Flasche nur wenige Tage.)

3. Differenzieren in:

Alkohol absolutus	80
Methylalkohol	40
Destilliertes Wasser	100,

unter mehrmaligem Wechseln, bis die Flüssigkeit klar bleibt.

4. Entwässern in 96proz. Alkohol.

Nach der Karminfärbung dürfen die Schnitte nicht mit Wasser in Berührung kommen, da das Karmin sonst sofort in das Wasser diffundiert.

Glykogen rot, Kerne blau. Hellrot färben sich außerdem derbes Bindegewebe, die Sekretionszellen des Magens, Corpora amylacea; etwas stärker färbt sich osteoides Gewebe vor der Verkalkung und mitunter auch Amyloid.

7. Fett.

In frischen Präparaten wird Fett durch Zusatz von Natronlauge nachgewiesen, die das Fett nicht verändert; ebenso verhalten sich fettähnliche Substanzen wie Protagon und Myelin. Letztere Substanzen sind doppeltbrechend und sind zum Teil mit schwachen Neutralrotlösungen färbbar.

Beim Nachweis von Fett in gehärteten Präparaten ist die Behandlung mit fettlösenden Substanzen zu vermeiden außer nach Härtung in Osmiumgemischen, die das Fett schwärzen und wenig löslich machen; es kommen also bei anderweitigen Härtungen (Formalin) nur Gefrierschnitte in Betracht.

1. Die mit Hämatoxylin vorgefärbten Schnitte kommen auf fünf Minuten in 50proz. Alkohol.

2. 20 Minuten Färben in einer gesättigten Lösung von Sudan III oder Fettponceau in 80proz. Alkohol.

3. Abspülen in 50proz. Alkohol.

4. Auswaschen in Wasser, Untersuchen und Konservieren in Glyzerin.

Fett und fettähnliche Substanzen sind orangerot bis scharlachrot, die Markscheiden der Nerven und Amyloid hellrot. Fettsäurekristalle bleiben ungefärbt.

Eine gute, namentlich bei der Untersuchung des Nervensystems angewandte Methode zum Nachweis von Fett, die auch Einbettung der Objekte gestattet, ist die von

Marchi. 1. Dünne, womöglich in Formalin bereits fixierte Stückchen werden 8—10 Tage in öfter zu wechselnder Müllerscher Flüssigkeit gehärtet.

2. Weiterbehandeln 1—3 Wochen bei Brütwärme in folgendem mindestens einmal wöchentlich zu erneuerndem Gemisch:

Müllersche Lösung . 2
1 proz. Osmiumsäure . 1.

3. 24 Stunden langes Auswaschen in fließendem Wasser.

4. Gefrierschnitte oder Nachhärten in Alkohol, Celloidineinbettung.

Das Fett ist geschwärzt. Eine Kernfärbung mit Anilinfarben kann man nachfolgen lassen.

Über Fettgewebsnekrosen siehe beim Pankreas S. 65).

8. Cholestearin.

Cholestearin läßt sich ebenso wie Amyloid (siehe dieses) mittels der Jodschwefelsäurereaktion in frischen *Präparaten* blau färben. In Schnitten ist es in der

Sudan III:

Haemalaun 1-2 Min.
Wasser 2-3
50% Alkohol 1/2
Sudan III 25-30
50% Alkohol 1/2
Wasser 2 – länger
Glycerinbehandlung

Regel nicht nachweisbar, da es sich in Alkohol, Äther und Xylol auflöst und aus Gefrierschnitten wegen seiner Sprödigkeit leicht herausfällt.

9. Kalk.

In frischen Präparaten bei durchfallendem Licht (und schwacher Vergrößerung) schwarz, in auffallendem Lichte weiß. Handelt es sich um kohlensauren Kalk, so verschwindet er bei Zusatz von 5proz. Salzsäure unter Entwicklung kleiner Kohlensäurebläschen, phosphorsaurer Kalk löst sich ohne solche.

Kalk färbt sich mit allen alaunhaltigen Farbstoffen sehr intensiv, am besten bei Härtung in Orthscherlösung. Besonders geeignet zum Nachweis von Kalk ist Alaunhämatoxylin (etwa das von Böhmer angegebene), das Kalk violett färbt. Diese Färbung tritt oft auch noch nach vorgenommener Entkalkung ein, falls die Entkalkungsflüssigkeiten nicht allzu intensiv eingewirkt haben.

10. Harnsaure Salze.

Von frischen Objekten mache man Zupf- oder Abstreifpräparate; von gichtischem Knorpel fertige man dünne Skalpellschnitte.

Härtung nur in absolutem Alkohol, da Wasser die Salze rasch löst. Einbettung in Celloidin, Färben mit alkoholischer Vesuvinlösung.

11. Pigmente.

Eisenhaltige Pigmente. An frischen sowohl wie an gehärteten Präparaten (Alkohol, Sublimat) läßt sich die Berlinerblaureaktion ausführen. Man bringe die Schnitte (mit Glasnadeln!) auf 10—20 Minuten in eine 5proz. Ferrozyankaliumlösung, hierauf in den gewöhnlichen Salzsäurealkohol, bis Blaufärbung des Pigmentes eintritt (10—30 Minuten, unter dem Mikroskop kontrollieren); dann auswaschen in Wasser. Man kann

bei gehärteten Präparaten eine Vorfärbung mit Alaunkarmin vorausgehen lassen.

Da den zu untersuchenden Objekten während der Fixierung und Härtung lösliches Eisen entzogen werden kann, so verfährt man nach Hall*) besser folgendermaßen:

1 Man bringt die Präparate in frischem Zustande auf 24 Stunden in folgende Lösung, und zwar

Leber, Milz und Knochenmark in:

Schwefelammonium	30
Absol. Alkohol . .	70,

Darm in:

Schwefelammonium	5
Dest. Wasser . .	25
Absol. Alkohol . .	70.

2. Nachhärten in Alkohol, Einbetten in Paraffin.

3. Die Schnitte sind am besten aufzukleben und können mit Karmin vorgefärbt werden. Sie werden dann 20 Minuten in folgende Lösung eingelegt:

Dest. Wasser .	100
Ferrocyankalium	1,5
Salzsäure . . .	0,5.

Abspülen in Wasser.

Diese Methode weist die geringsten Spuren von Eisen nach.

Gallenpigment. An frischen Präparaten kann man die Gmelinsche Reaktion ausführen, indem man vom Rande des Deckgläschens her einen Tropfen rauchender Salpetersäure zusetzt; es entstehen die bekannten Farbenringe.

Fetthaltige Pigmente (Ganglienzellen, Luteïnzellen) werden mit den beim Nachweis von Fett angegebenen Methoden untersucht; sie sind oft noch an eingebetteten Präparaten färbbar.

*) Cit. nach Schmorl, Patholog.-histolog. Untersuchungsmethoden, 3. Aufl.

Untersuchungsmethoden für die einzelnen Organe.

1. Blut und Knochenmark.

Zur frischen Untersuchung bringt man ein kleines Tröpfchen Blut auf die Mitte eines mit Alkohol gereinigten Deckgläschens und legt letzteres möglichst rasch mit der beschickten Seite nach unten auf einen ebenso gereinigten Objektträger, so daß sich der Blutstropfen in kapillarer Schicht zwischen Objektträger und Deckglas ausbreitet. Man vermeide es, auf das Deckglas zu drücken. Muß man den Blutstropfen längere Zeit beobachten, so umrandet man das Deckglas mit Wachs oder Paraffin. Will man das Blut verdünnen, so benutze man physiologische Kochsalzlösung oder noch besser menschliches (bezw. von der entsprechenden Tierart stammendes) Blutserum. Zur Untersuchung der sehr vergänglichen Blutplättchen fängt man den zur Untersuchung bestimmten Blutstropfen am besten direkt in einer Konservierungsflüssigkeit, z. B. 1proz. wässeriger Osmiumsäurelösung auf; es kann das derart geschehen, daß man einen Tropfen dieser Flüssigkeit auf die zur Blutentnahme bestimmte Hautstelle (Ohrläppchen, Fingerbeere) bringt und durch den Tropfen hindurch einsticht.

Deckglastrockenpräparate von Blut oder Knochenmark werden in der Weise angefertigt, daß man ein kleines Tröpfchen des zu untersuchenden Materials auf die Mitte eines sorgfältig gereinigten Deckgläschens bringt, ein zweites unter Vermeidung jeglichen Druckes auflegt und es alsdann mit raschem Ruck von dem ersten abzieht. Man faßt die Deckgläschen dabei besser nicht mit den Fingern, sondern mit Pinzetten, da die von den Fingern ausgehende Wärme beträchtliche Veränderungen an den Blutzellen

hervorrufen kann. Es ist im übrigen darauf aufmerksam zu machen, daß bei Anfertigung solcher Ausstrichpräparate auch bei schonendstem Verfahren die Blutzellen Veränderungen erleiden müssen und daher die entstehenden Bilder nicht immer genau den natürlichen Verhältnissen entsprechen.

Fixierung der lufttrocken gewordenen Deckglaspräparate geschieht entweder durch Einlegen in absoluten Alkohol oder Ätheralkohol (10 Minuten) oder in Methylalkohol (5 Minuten).

Besser ist Fixierung durch Hitze nach Ehrlich. Ein Kupferstreifen von etwa 30 cm Länge und 6 cm Breite wird an einem Ende durch einen Bunsenbrenner erhitzt. Ist die Erhitzung eine halbe Stunde fortgesetzt worden, so ist die Temperatur an allen Stellen des Streifens konstant geworden, und man kann nun durch kleine Wassertröpfchen leicht die Stelle mit der Temperatur 100° herausfinden (hier beginnen die Wassertropfen eben zu sieden). 1—2 cm von dieser Stelle nach der Flamme zu beträgt die Temperatur etwa 120°, und hier werden die Deckgläschen für 5—10 Minuten mit der bestrichenen Seite nach oben aufgelegt.

Weidenreichs*) Methode: In eine nicht zu große Glasdose gibt man 5 ccm einer 1proz. Osmiumsäurelösung nebst 10 Tropfen Eisessig und setzt sorgfältig gereinigte Objektträger mindestens zwei Minuten lang den Dämpfen des Gemisches aus, indem man sie quer über die Dose legt. Alsdann wird die ausgesetzte Seite rasch mit dem zu untersuchenden Blut bestrichen und das Blut nunmehr 1—2 Minuten durch Einwirkung derselben Dämpfe fixiert. Dann läßt man trocknen, zieht kurz dreimal durch die Flamme und legt die Präparate nach dem Erkalten auf eine Minute in ganz

*) *Folia* haematologica 1906 S. 1.

schwache (hellrote) Kaliumpermanganatlösung. Abspülen mit Wasser, Trocknen mit Fließpapier.

Färbemethoden. Man wende niemals nur eine einzige, sondern immer mehrere Methoden gleichzeitig an, da keine einzige allen Anforderungen gerecht wird und jede ihre besonderen Vorzüge hat. Man spüle grundsätzlich nur mit destilliertem Wasser ab, entwässere nicht mit Alkohol, sondern trockne mit Fließpapier und schließe sofort in Balsam ein.

a) Haematoxylin-Eosin. Rote Blutkörperchen und eosinophile Granula rot, Kerne blau.

b) Ehrlichs Triazidlösung. Man beziehe sie am besten fertig von Grübler; doch sind die von dort erhältlichen Lösungen sehr ungleich im Werte. Die am besten in der Hitze fixierten Präparate werden 5—10 Minuten gefärbt (die Lösung stets nur mit der Pipette entnehmen, niemals umschütteln!). Eosinophile Granulationen, leuchtend rot, neutrophile Granulationen lilarot, rote Blutkörperchen orange, Kerne grünlichblau. Namentlich die neutrophilen Granulationen treten gut hervor.

c) Giemsasche*) Lösung, gleichfalls fertig von Grübler zu beziehen. Man mischt jedesmal vor dem Gebrauch je 1 ccm destilliertes Wasser mit je 2 Tropfen der Lösung (also 10 Tropfen auf 5 ccm) und übergießt mit dem Gemisch das mit der bestrichenen Seite nach unten in ein Uhrschälchen gelegte Deckglas (legt man die bestrichene Seite nach oben, so entstehen sehr störende Niederschläge). Färbung 20 Minuten. Kerne violett, Protoplasma und basophile Granulationen blau, eosinophile leuchtend rot, neutrophile manchmal ungefärbt, manchmal lilarötlich. Erythrozyten je nach dem Ausfall der Färbung rosa bis grau. Blutplättchen bläulich mit violettem Zentrum.

---

*) Deutsche med. Wochenschr. 1905 S. 1026.

d) May-Grünwaldsche*) Lösung, fertig von Grübler zu beziehen. Färbung 5—10 Minuten mit der unverdünnten Lösung: Kerne hellblau bis grünlichblau, eosinophile Granulationen leuchtend rot, neutrophile lilarosa, basophile, wenn gefärbt, hellblau, Erythrozyten hellrot. Blutplättchen hellblau.

e) Schriddes**) Methode zum Nachweis der Lymphozytenkörnelungen: 1. Fixieren der ausgestrichenen und lufttrocken gewordenen Präparate 12 Stunden in Orthscher Formalin-Müller-Lösung.

2. Abspülen mit destilliertem Wasser.

3. Beizen mit 1proz. Osmiumsäure $^1/_2$—1 Stunde.

4. Abspülen in Wasser.

5. Färben bis zur Dampfbildung in Altmanns Anilinwassersäurefuchsinlösung.

6. Differenzieren in Pikrinsäurealkohol (1 Teil gesättigte alkoholische Pikrinsäurelösung auf 7 Teile 20proz. Alkohol), bis das Präparat einen gelblichen Ton zeigt.

7. Abspülen in absolutem Alkohol.

Eosinophile Granulationen schwarzrot, neutrophile blaßbräunlichrot, Lymphozytengranulationen gelblichkarmoisinrot.

Schnittpräparate. Fixierung kleiner Knochenmarkstückchen in Sublimat oder Formalin. Paraffineinbettung ist unbedingt anzuraten, da Celloidin sich häufig mitfärbt. Schnitte möglichst dünn (Aufkleben).

Man färbt nach Schridde***) am besten mit Giemsalösung, wie oben bei den Ausstrichpräparaten angegeben, 20 Minuten, spült sehr sorgfältig in destilliertem Wasser aus, trocknet mit Fließpapier ab und entwässert in säurefreiem Azeton (hier darf keine Entfärbung

*) Centralbl. f. inn. Med. 1902 S. 265.

**) Münch. med. Wochenschr. 1905 S. 1233.

***) *Centralbl. f.* Pathol. 1905 S. 769.

mehr auftreten!). Aufhellen in säurefreiem Xylol, Einschluß im neutralen Kanadabalsam (Bals. canadens. rect. neutr. Grübler). Die Färbung gelingt nur gut an höchstens 5 μ dicken Schnitten. Kerne blau, eosinophile Granula rot, neutrophile violettrot, basophile tief dunkelblau, Erythrozyten grün.

Nach Zieler*) ist ebensogut das May-Grünwaldsche Gemisch anwendbar, mit dem man 2—3 Minuten färbt (mit der Pipette entnehmen!); diese Färbung läßt sich auch an dickeren Schnitten ausführen und gibt ähnliche Resultate wie die vorstehende.

Untersuchung von Blutspuren zu gerichtlichen Zwecken. Man schabe etwas von dem verdächtigen Material ab, weiche in physiologischer Kochsalzlösung oder konzentrierter Zyankaliumlösung auf und untersuche mikroskopisch. Lassen sich keine roten Blutkörperchen erkennen, so mache man die Teichmannsche Probe: Zu einem Teil der abgeschabten Substanz setze man auf dem Objektträger einen Tropfen Eisessig und einen Kochsalzkristall und erwärme vorsichtig. Bei Anwesenheit von Blut bilden sich die braunen, rhombischen, stäbchenartigen Häminkristalle, unlöslich in Wasser, Alkohol und Äther. (In jedem Falle ist dann noch durch die biologische Methode der Nachweis zu erbringen, daß es sich um Menschenblut und nicht um Tierblut handelt.)

2. Milz und Lymphdrüsen.

Zur Untersuchung frischer Objekte fertigt man Abstrich- oder Zupfpräparate.

Härtung in Sublimat oder Formalin. Zur Färbung der Zellen und ihrer Strukturen dienen die bei Blut und Knochenmark angegebenen Methoden. Für einfache Übersichtsbilder genügt auch Hämatoxylinfärbung. Zur

*) Centralbl. f. Pathol. 1906 S. 433.

Darstellung des Reticulum ist die Methode von Mallory zur Färbung der Bindegewebsfasern zu empfehlen.

3. Herz und Gefäße.

Vom Herzen werden in frischem Zustande Zupfpräparate angefertigt. Vom Inhalt atheromatöser Gefäßveränderungen macht man Abstrichpräparate. Verfettete Aortenintima wird in kleinen Stückchen mit einer feinen Pinzette abgezogen und in Natronlauge untersucht.

Härtung, Einbettung und Färbung beliebig. Vorzuziehen ist Celloidineinbettung, namentlich, wenn es sich um Thromben oder endokarditische Effloreszenzen handelt. Von Färbungen sind die van Giesonsche und die Weigertsche Methode zur Färbung elastischer Fasern anzuempfehlen.

4. Seröse Häute.

Härtung und Färbung beliebig. Bei Entzündungen am besten Alkoholhärtung, damit die Weigertsche Fibrinfärbemethode anwendbar ist. Auch Färbung auf elastische Fasern ist anzuraten, um die elastische Grenzlamelle sichtbar zu machen.

5. Schleimhäute.

Von frischen Präparaten fertige man Scherenschnitte in folgender Weise: Man schlage ein Stück der zu untersuchenden Schleimhaut über den linken Zeigefinger und halte es mit Daumen und Mittelfinger fest. Alsdann schneide man in das Organ mit gebogener Schere ein myrtenblattförmiges Loch und suche nun mit der Schere vom Rande dieses Loches kleine, dünne, die Schleimhaut senkrecht durchsetzende Schnitte zu gewinnen.

Härtung beliebig. Man färbt am besten nach *van Gieson;* bei chronischen Entzündungen sind Fär-

bungen auf Plasmazellen (polychromes Methylenblau, Methylgrün-Pyronin) angebracht.

6. Äußere Haut.

Härtung beliebig, am besten Alkohol, Formalin oder Zenkerscher Lösung. Celloidineinbettung ist vorzuziehen, da Hautpräparate in Paraffin oft sehr spröde werden. Färbung nach van Gieson, auf elastische Fasern, mit polychromem Methylenblau.

Das Keratohyalin färbt sich sehr deutlich bei intensiver Hämatoxylinfärbung, etwas weniger gut mit Karmin. Über Färbung der Hornsubstanzen siehe S. 45.

7. Nervensystem.

Frische Untersuchung geschieht durch Quetschpräparate.

Fixierung und Härtung muß verschieden ausgeführt werden, je nachdem welche Elemente zur Darstellung gebracht werden sollen. Man tut daher gut, stets mehrer Stücke des zu untersuchenden Materials nach verschiedenen Methoden zu fixieren.

a) Ganglienzellen. Härtung in Alkohol oder Formalin (nicht in chromsauren Salzen). Die Darstellung der Nißlschen Körner (Tigroid) gelingt sowohl an Gefrier- als an Celloidinschnitten. Färben mit 1—2proz. wässeriger Thioninlösung oder gesättigter wässeriger Neutralrotlösung unter leichtem Erwärmen. Auswaschen in destilliertem Wasser, Differenzieren in 96proz. Alkohol. Die Nißlschen Granula sind blau bezw. rot.

b) Achsenzylinder. Es existieren zahlreiche Färbemethoden, aber keine wirklich elektive. Am einfachsten ist Färbung mit Lithionkarmin 1—2 Stunden ohne nachfolgende Differenzierung. Ganz gute Resultate gibt auch die van Giesonsche Methode bei Härtung der Objekte in chromsauren Salzen und Anwen-

dung des Weigertschen Hämatoxylins. Die Achsenzylinder werden braunrötlich, Glia gelblich, Bindegewebe leuchtend rot. Eine eingreifendere Methode, die manchmal auch da noch die Existenz von Achsenzylindern nachweist, wo andere Methoden im Stiche lassen oder zweifelhafte Resultate geben, ist die von

Bielschowsky.*) 1. Möglichst frische Härtung des Materials in Formalin, am besten Gefrierschnitte.

2. Beizen in 2proz. Argentum nitricum-Lösung 24 Stunden oder länger.

3. Rasches Durchziehen durch destilliertes Wasser.

4. Einlegen in folgende, jedesmal frisch zu bereitende Lösung:

10 proz. Argentum-nitricum-Lösung 5 ccm
40 proz. Natronlauge . . . . . 5 Tropfen.

Hierzu setzt man tropfenweise Ammoniak, bis der entstehende Niederschlag sich wieder gelöst hat, auffüllen mit destilliertem Wasser auf 20 ccm. In dieser Lösung bleiben die Schnitte 15 Minuten.

5. Einlegen in schwache Essigsäure (5 Tropfen Eisessig auf 20 ccm Wasser), bis die braunen Schnitte gelb werden.

6. Reduktion in 20proz. Formalinlösung, bis keine weißlichen Wolken mehr aufsteigen.

7. Einlegen in schwache Goldlösung (5 Tropfen) einer 1proz. Goldchlordislösung auf 10 ccm destilliertes Wasser) bis zur rötlich violetten Färbung (etwa eine Stunde.

8. Abspülen in 5proz. Natriumthiosulfatlösung.

9. Sorgfältiges Auswaschen in destilliertem Wasser.

Achsenzylinder schwarz, Bindegewebe violett, Markscheiden manchmal rötlich gefärbt.

---

*) *Journ. f.* Psychol. u. Neurol. 1905 S. 227.

c) Markscheiden. Nach Stoeltzner.*)

1. Formalinhärtung, Gefrierschnitte oder Celloidineinbettung.

2. Beizen der Schnitte 5 Minuten lang in Liquor ferri sesquichlorati.

3. Färben in $^1/_2$proz. wässeriger Hämatoxylinlösung 10 Minuten.

4. Abspülen in Wasser, Differenzieren in zehnfach verdünntem Liquor ferri sesquichlorati.

Markscheiden dunkelblau, übriges Gewebe farblos. Man kann eine Karminfärbung der Kerne damit verbinden. Diese einfache Methode genügt für gewöhnliche Zwecke vollkommen. Handelt es sich um feinere Untersuchungen, vor allen Dingen am Großhirn und am fötalen Nervensystem, so ist unbedingt die Methode von Weigert vorzuziehen.

Die Objekte, die in Formalin fixiert sein können, müssen gründlich (2—8 Wochen) in Müllerscher Lösung gehärtet werden; dann Nachhärten in Alkohol ohne vorheriges Auswässern. Die Objekte dürfen im Alkohol nicht grün werden, sonst sind sie nochmals in Müllersche Lösung zu bringen; die Alkoholhärtung ist möglichst abzukürzen. Einbettung in Celloidin.

Einlegen 24 Stunden in halb gesättigte, wässerige Lösung von Cuprum aceticum neutrale. Schneiden. Man kann auch zuerst schneiden und die Schnitte auf die angegebene Weise kupfern.

1. Färben 12 Stunden in einer Mischung von gleichen Teilen 4proz. wässeriger Lösung des offizinellen Liquor ferri sesquichlorati und 1proz. alkoholischer Hämatoxylinlösung. Die Mischung ist jedesmal frisch zu bereiten.

---

*) Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. Bd. 23 H. 3.

2. Auswaschen in Wasser und Differenzieren in folgender Lösung:

Rotes Blutlaugensalz	2,5
Borax	2,0
Dest. Wasser . . .	100,0

3. Sobald die graue Substanz einen hellgelben Farbenton angenommen hat, wäscht man gründlich in Wasser aus. Die markhaltigen Nervenfasern sind dunkelblau, alles übrige hellgelb, mitunter fast farblos.

Frische Degenerationen an den Markscheiden weist man nach mittels der Marchischen Methode (siehe S. 48); die Trümmer der Markscheiden werden durch sie geschwärzt. Man versäume daher niemals, bei Verdacht auf degenerative Veränderungen am Nervensystem einen Teil des Materials nach Marchi zu fixieren, da die Methode an den zur Weigertschen Markscheidenfärbung vorbereiteten und in Celloidin eingebetteten Stücken nicht mehr ausführbar ist. Dagegen läßt sich an nach Marchi fixiertem Material recht gut die Weigertsche Markscheidenfärbung vornehmen.

d) Neuroglia. Mit Nigrosin in 1proz. wässeriger Lösung färbt sich die Neuroglia blaugrau (ebenso freilich das Bindegewebe und die Achsenzylinder).

Nach der van Giesonschen Methode wird die Glia rötlich bis gelbrötlich gefärbt, bei Anwendung von Weigerts Hämatoxylin gelb. Elektive Färbungen der Glia sind mehrere angegeben, die meisten sind jedoch sehr unzuverlässig. Am brauchbarsten, aber auch immer noch sehr launisch, ist die

Methode von Weigert. 1. Fixierung möglichst frischer und kleiner Stücke in 10proz. (vierfach verdünnter) Formalinlösung 4—5 Tage; die Formalinlösung *ist täglich* zu wechseln.

2. Beizung 4—5 Tage bei Brüttemperatur in folgendem Gemisch:

Chromalaun	2,5
Dest. Wasser	100,0
Essigsäure	5,0
Neutrales essigsaures Kupfer	5,0

(in der angegebenen Reihenfolge in der Wärme zu mischen). Man kann dieser Neurogliabeize auch 10proz. Formalin zusetzen und die frischen Objekte sofort in dies Gemisch einlegen.

3. Nachhärtung in Alkohol, Einbettung in Celloidin oder Paraffin.

4. Einlegen der Schnitte (Paraffinschnitte aufkleben) auf 10 Minuten in eine 0,3proz. Lösung von Kaliumpermanganat, gründliches Auswaschen in Wasser.

5. Reduzieren 2—4 Stunden in folgender Lösung:

Chromogen . .	5,0
Ameisensäure .	5,0
Wasser . . .	100,0

Filtrieren, zu 90 ccm des Gemisches füge man 10 ccm 10proz. Natriumsulfitlösung.

6. Nach kurzem Abspülen fange man die Schnitte, sofern sie nicht bereits aufgeklebt sind, mit dem Objektträger auf und drücke sie mittels Fließpapier fest an. Alsdann einige Minuten Färben in folgender Lösung:

Heiß gesättigte konz. alkohol. Methylviolettlösung	100
5 proz. Oxalsäurelösung	5

(Aufkochen, Filtrieren.)

7. Abgießen der Farblösung, Trocknen mit Fließpapier und Auftropfen folgender Lösung:

5 proz. wässerige Jodkalilösung
Jodi puri, so viel sich löst (keinesfalls zu wenig!).

8. Nach einigen Sekunden Abgießen, Abtrocknen mit Fließpapier, Differenzieren in einem Gemisch von

Anilin und Xylol āā; mehrfach unter dem Mikroskop kontrollieren.

9. Gründliches Auswaschen in mehrmals zu wechselndem Xylol.

Neuroglia blau, ebenso die Kerne. Das Bindegewebe und ebenso Fibrin färben sich manchmal mit.

Nach Wimmer*) soll die Färbung noch etwas sicherer gelingen, wenn man in Alkohol härtet, in Paraffin einbettet, die entparaffinierten Schnitte in die Gliabeize legt und die Reduktion statt in der von Weigert angegebenen Lösung in 2proz. Resorzinlösung bei Brutwärme vornimmt.

8. Knochen.

Die mikroskopische Untersuchung frischen unentkalkten Knochens ist unbequem, aber sollte womöglich niemals unterbleiben, da Härtung und Entkalkung vielerlei verändert; besonders wenn es sich um Feststellung des Kalkgehalts handelt, ist die Untersuchung unentkalkter Stückchen anzuraten. Sehr weiche (rachitische und osteomalazische) Knochen lassen sich in unentkalktem Zustande oft schon mit dem Gefriermikrotom schneiden. Von härteren Knochen sind in vielen Fällen mit dem Skalpell kleine Schnitte zu gewinnen; aus spongiösem Knochen breche man mit der Pinzette kleine Stückchen heraus.

Fixierung in allen Fällen am besten in Orthscher Lösung. Kommt es auf das Studium der Verkalkungs- und Entkalkungsprozesse an, so ist anzuraten, die Schnitte nicht mit einem der S. 18 angegebenen Verfahren vollständig, sondern unvollständig in Müllerscher Flüssigkeit zu entkalken. Man lege 2—4 mm dicke Knochenscheibchen mehrere Wochen

*) *Centralbl. f.* Pathol. 1906 S. 566.

bis Monate in nur selten zu wechselnde Müllersche Lösung, bis sie etwa wie hartes Holz schneidbar geworden sind. Alsdann Auswässern und Nachhärten in Alkohol. Celloidineinbettung. Färben mit Hämatoxylin-eosin oder nach van Gieson. Besonders scharf treten an den so behandelten Präparaten die verkalkten Partien hervor, wenn man die Schnitte vor der Färbung eine halbe Stunde in einer 2proz. Argentum nitricum-Lösung hellem Sonnenlicht aussetzt, dann in destilliertem Wasser auswäscht und zur Entfernung der Niederschläge auf 1—2 Minuten in eine 10proz. Natriumthiosulfatlösung einlegt; dann gründliches Auswässern und Färben. Alle verkalkten Partien sind tiefschwarz, während sie mit einfacher Hämatoxylinfärbung dunkelviolett werden. Für vollständig entkalkte Knochen ist Färbung mit Haematoxylin-Eosin bezw. Methylenblau-Eosin angebracht. Nach der Eosinfärbung lasse man die Schnitte noch einige Stunden in Wasser liegen, bevor sie in Alkohol kommen. Die vor der Entkalkung kalklos gewesenen Knochenpartien sind leuchtend rot gefärbt; sicheren Aufschluß über die Kalkverteilung gibt diese Methode aber nicht.

Darstellung der Knochenkörperchen nach Schmorl. 1. Fixierung beliebig, nur nicht Sublimat.

2. Beliebige Entkalkung.
3. Gefrierschnitte oder Einbettung in Celloidin.
4. Wässern eine Viertelstunde.
5. 10 Minuten Färben mit folgender Lösung:

Konz. wässerige Lösung von Thionin in 50proz. Alkohol	1,0
Dest. Wasser	10,0
Liq. Ammon. caustic.	1—2 Tropfen.

6. Abspülen in Wasser, mehrere Minuten Einlegen in heiß gesättigte, nach dem Erkalten filtrierte wässerige Lösung von Pikrinsäure, Abspülen in Wasser.

7. Differenzieren in 70proz. Alkohol, bis keine stärkeren blaugrünen Farbstoffwolken mehr aufsteigen (5—10 Minuten).

Die Knochensubstanz ist gelb, die Knochenhöhlen dunkelbraun bis schwarz, die Zellen rötlich.

9. Muskeln, Sehnen, Schleimbeutel.

Frisch zu untersuchen an Zupfpräparaten.

Härtung beliebig, am besten in Orthscher Lösung; Sublimatgemische sind zu vermeiden, da sie die Muskeln trübe machen. Celloidineinbettung unbedingt vorzuziehen. Färbung am besten nach van Gieson.

10. Lungen.

Frische Präparate von der Lunge fertigt man in der Weise an, daß man mit einer gebogenen Schere kleine Stückchen entnimmt, an einem Ende mit einer Nadel festhält und nun mit dem Messerrücken oder einem Spatel sanft darüber hinwegstreicht, um die Luftbläschen aus den Alveolen zu entfernen. Zusatz von Natronlauge macht das elastische Netz deutlich sichtbar. Will man den Alveolarinhalt untersuchen (z. B. bei Pneumonie, Fruchtwasseraspiration), so fertige man Abstreifpräparate.

Härtung, Fixierung und Einbettung beliebig. Zur Fixierung von Ödem wende man die Kochmethode an. Zum Nachweis von Fett (Fettembolie, Fruchtwasseraspiration) färbe man Gefrierschnitte mit Sudan oder Fettponceau oder härte nach Flemming. In den meisten Fällen ist Färbung auf elastische Fasern ratsam.

11. Schilddrüse.

Härtung, Fixierung und Einbettung beliebig. Färbung am besten nach van Gieson.

Haemosiderin

[1) 2% wässrige Ferrocyankalium einige Min.
2) Glycerin mit ½% HCl Zusatz
Reaktion blau
nicht von Dauer]

Dauerpräparate:

1) [illegible] (pg 34) ½-15 Min.
mit [illegible] Ferrocyankalium,
[illegible] HCl Alkohol, Wasser,
[illegible], Canadabalsam

1) [illegible] 24 Std.
2) [illegible]
3) [illegible] 20-30
[illegible] 30-36 Min. (bis Pigment blau
[illegible]
[illegible]

12. Leber.

Zur frischen Untersuchung fertige man Doppelmesserschnitte.

Härtung beliebig, Einbettung ist meist nicht nötig. Kommt es auf den Nachweis von Glykogen an, so härte man in absolutem Alkohol und bette in Celloidin ein. Bei Lebercirrhose ist die van Giesonsche Methode zu empfehlen. Zur isolierten Darstellung des Bindegewebes gebrauche man die Methoden von Mallory (siehe S. 40) und Bielschowsky (siehe S. 58).

13. Pankreas und Speicheldrüsen.

Härtung, Färbung und Einbettung beliebig.

Fettgewebenekrosen des Pankreas kann man grün färben, indem man das Präparat nach Formalinfixierung 2—4 Tage bei Brutwärme in die Weigertsche Neurogliabeize (siehe S. 61) oder in gesättigte wässerige Kupferazetatlösung einlegt. Das gleiche kann mit Gefrierschnitten geschehen; bei diesen ist jedoch nur einige Stunden Einwirkung erforderlich. Färbt man nach derartiger Beizung die Gefrierschnitte mit Sudan und Hämatoxylin, so werden die Kerne blau, das normale Fett rot, die nekrotischen Teile grün.

14. Nieren.

Zur Anfertigung frischer Präparate Doppelmesserschnitte, auch kleine Scherenschnitte, wenn es auf ganz kleine Bezirke (z. B. Konkrementinfarkte in den Papillen) ankommt.

Härtung und Färbung beliebig, Einbettung meist nicht nötig. Zum Nachweis von Glykogen oder Gichtablagerungen Härtung in absolutem Alkohol, Celloidineinbettung; im letzteren Falle Färben in alkoholischer Vesuvinlösung.

15. Nebennieren.

Härtung beliebig, am besten in Müllerscher bezw. Orthscher Lösung, welche die chromaffinen Zellen braun färben. Einbettung und Färbung beliebig.

16. Geschlechtsapparat.

Frische Untersuchung kommt nur bei Auskratzungen des Uterus wesentlich in Betracht; vergl. darüber den folgenden Abschnitt.

Härtung, Einbettung, Färbung beliebig. Bei Prostata, Uterus und Tube ist die van Giesonsche Färbung zu empfehlen, bei Hoden und Nebenhoden Färbung auf elastische Fasern.

Untersuchung von Samenflecken zu gerichtlichen Zwecken. Man weiche kleine Teilchen des verdächtigen Materials in destilliertem Wasser auf und versuche im frischen Präparat Spermatozoen aufzufinden; Färbung kann zu Täuschungen führen und ist daher besser zu unterlassen. Als Vorprobe, ob überhaupt Samen vorliegen kann, ist die Florencesche Reaktion zu empfehlen, bei deren negativen Ausfall das Suchen nach Spermatozoen nutzlos ist: Neben einen Tropfen spermahaltigen Materials bringe man auf den Objektträger einen Tropfen starke Jodjodkaliumlösung (Jod 1,65, Jodkali 2,54, Wasser 30,0) und bedecke mit einem Deckglas; an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten entstehen braune, nadelförmige rhombische Kristalle. Sicherer, da nur mit menschlichem Sperma eintretend, ist die Probe von Barberio: Statt Jodjodkaliumlösung nimmt man gesättigte wässerige Pikrinsäurelösung; es bilden sich ähnliche, gelb gefärbte Kristalle. Beweisend ist aber allemal nur der Befund von Spermatozoen.

Untersuchung von Probeexzissionen, Auskratzungen und Geschwulstteilchen.

Ist einigermaßen genügendes Material vorhanden, so unterlasse man nie die Untersuchung in frischem Zustande, wobei oft schon eine Diagnose zu stellen ist, z. B., wenn es sich um ausgekratzte Abortreste handelt. Etwas größere und resistente Stückchen schneide man nach Formalinhärtung mit dem Gefriermikrotom, sonst wende man die S. 22 beschriebene Schnelleinbettung an, da meist eine rasche Diagnosenstellung erwünscht ist. In der Regel genügt Hämatoxylin- und van Gieson-Färbnug. Handelt es sich um Untersuchung sehr zahlreicher kleiner Bröckchen, so zentrifungiert man zweckmäßig vor jedem Flüssigkeitswechsel, gießt die alte Flüssigkeit ab und setzt neue hinzu. In jeder neu aufgegossenen Flüssigkeit muß das Material gut durchgeschüttelt werden. Schließlich gießt man von dem geschmolzenen Paraffin, in dem sich die Objekte befinden, den oberen Teil vorsichtig ab und schüttelt den Rest mit dem zu untersuchenden Material in das zur Einbettung dienende Gefäß.

Untersuchung von Parasiten.

1. Bakterien.

Man untersucht in frischem Zustande, indem man eine Spur des zu untersuchenden Materials in Kochsalzlösung zwischen Objektträger und Deckglas sich ausbreiten läßt, oder noch besser im hängenden Tropfen (siehe S. 12). Untersuchung am besten mit Immersion.

Zur Anfertigung gefärbter Präparate (Trockenpräparate) streiche man möglichst wenig des zu untersuchenden Materials möglichst dünn auf ein Deckglas oder einen Objektträger aus, lasse lufttrocken werden

und ziehe alsdann das Präparat zwecks Fixierung dreimal rasch mit der bestrichenen Seite nach oben durch die Flamme eines Bunsenbrenners oder langsam durch eine Spiritusflamme. Zum Festhalten der Ausstrichpräparate bei den Färbeprozeduren bedient man sich zweckmäßig der Cornetschen Klemmpinzette. Man färbt ausschließlich mit Anilinfarben, und zwar mit wässerig alkoholischen Lösungen. Besonders empfehlenswert ist das Löfflersche Methylenblau:

Konz. alkohol. Methylenblaulösung 30
0,01 proz. Kalilauge . . . . . 100.

Ferner zehnfach verdünntes Karbolfuchsin (siehe S. 69).

Die Lösungen färben in $^1/_2$—1 Minute. Abspülen mit Wasser, Abtrocknen mit Fließpapier, Untersuchen in Kanadabalsam oder Zedernöl mittels Immersion.

Gramsche Färbung. 1. Färben 2—5 Minuten mit Anilinwassergentianaviolett, das auf folgende Weise bereitet wird:

1 ccm Anilinöl wird mit 10 ccm destilliertem Wasser mehrere Minuten kräftig geschüttelt. Man läßt einige Minuten absetzen und filtriert durch ein gut angefeuchtetes Filter. Zu dem klaren Filtrat, das keine Öltröpfchen mehr enthalten darf, setze man 1—2 ccm konz. alkoholische Gentiana- (oder Methyl-)violettlösung. Filtrieren. Die Lösung hält sich höchstens acht Tage und ist vor jedesmaligem Gebrauche zu filtrieren.

2. Nach der Färbung Abspülen in Wasser.

3. Jodjodkaliumlösung eine Minute.

4. Abgießen (nicht Abspülen) und Differenzieren mit absolutem Alkohol, bis das Präparat keine blaue Farbe mehr abgibt.

5. Ganz kurzes Nachfärben mit zehnfach verdünnter Karbolfuchsinlösung, Abspülen mit Wasser.

Mit dieser Methode färben sich dunkelblau:

Tuberkelbacillen:

30 Min. Kreosotlösung } aa { 5 Min. Methylenblau
30 " Wasser } aa { 1 Min. 1% Essigsäure
Wasser abspülen

30 Min. – 2% Carbolfuchsin ... Bruchstrauch
1 " Entfärbe ... in Salzsäure-Alkohol
3 " ... Wasser ... Lot
... 1 Glas Wasser
...
...
...

Staphylokokken, Streptokokken, Pneumokokken, Mikrokokkus tetragenus, Bacillus pyocyaneus, Tetanusbazillen, Milzbrandbazillen, Diphtheriebazillen, Leprabazillen, Tuberkelbazillen. Es färben sich nicht (bezw. durch die Nachfärbung rot): Meningokokken, Gonokokken, Pneumoniebazillen, Rhinosklerombazillen, Pacterium Proteus, Typhusbazillen, Bacterium coli, Ulcus molle-Bazillen, Influenzabazillen, Pestbazillen, Rotzbazillen, Choleravibrionen.

Tuberkelbazillenfärbung. Das hierzu erforderliche Karbolfuchsin wird auf folgende Weise bereitet: Man verreibe 1 g Fuchsin im Mörser mit 5 ccm Acidum carbolicum liquefactum, füge 10 ccm absoluten Alkohol und weiter unter ständigem Umrühren 90 ccm destilliertes Wasser hinzu. Filtrieren, am besten vor jedem Gebrauche abermals.

1. Färben mit Karbolfuchsin unter Erhitzen bis zur Blasenentwicklung, 1—2 Minuten.
2. Erkalten lassen, abspülen mit Wasser.
3. Differenzieren in Salzsäurealkohol, bis kein roter Farbstoff mehr abgegeben wird.
4. Kurze Nachfärbung mit Methylenblau, Abspülen in Wasser.

Tuberkelbazillen rot, alles übrige blau. Ebenso sind färbbar die Leprabazillen, auch einige im Smegma vorkommende Bazillen; letztere geben jedoch bei etwas längerem Differenzieren in Salzsäurealkohol die rote Farbe wieder ab und färben sich mit der blauen Gegenfarbe, was die Tuberkelbazillen niemals tun.

Färbung der Bakterien in Schnittpräparaten. Alkoholhärtung ist unter allen Umständen zu bevorzugen; auch Sublimat ist brauchbar, Formalin gibt oft Mißerfolge. Einbettung am besten in Paraffin. Handelt es sich um Tuberkelbazillen, so färbe man nach der oben angegebenen Methode, nur daß man nicht heiß, sondern 20 Minuten kalt färbt. Nach

dem Differenzieren in Salzsäurealkohol und Auswaschen läßt man eine schwache Kernfärbung mit Hämatoxylin oder Methylenblau folgen. Bei Bakterien, die sich nach Gram dunkelblau färben (siehe oben), wende man die Gramsche Methode oder auch die Weigertsche Fibrinfärbemethode (siehe S. 42) an; Vorfärbung der Kerne mit Alaunkarmin oder Lithionkarmin. Alle übrigen Bakterien färbe man im Schnitt am besten mit der Giemsaschen oder May-Grünwaldschen Lösung. Die Technik ist dieselbe wie bei den Blutfärbungen S. 54.

2. Strahlenpilze.

Zur frischen Untersuchung fische man aus dem Eiter die makroskopisch sichtbaren Körnchen heraus und untersuche in Kochsalzlösung mit schwacher bis mittelstarker Vergrößerung.

Ausstrichpräparate lassen sich ohne Zerstörung der Drusen nicht anfertigen.

Schnittpräparate (Alkoholhärtung, Paraffineinbettung) färbt man nach Schlegel*) sehr einfach folgendermaßen:

1. Vorfärbung mit Hämatoxylin.
2. Färben 4—5 Stunden in gesättigter alkoholischer Eosinlösung im Brütofen. Aktinomycesdrusen leuchtend rot.

3. Sproßpilze.

Die Technik der frischen wie der Ausstrichpräparate ist ganz wie bei den Bakterien. Eine Anzahl Hefepilze färben sich nach Gram, darunter der beim Menschen parasitär vorkommende Soorpilz; er kann also auch in Schnitten mit der Gramschen Methode dargestellt werden. Für die die Gramfärbung

*) Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.

Staphylococcen

3-5 Methylachten (bis dünnste [illegible])

1 M 1% Essigsäure

Gegenfärbung mit Eosin.

ablehnenden Hefearten hat Busse folgende Schnittfärbung angegeben:

1. Vorfärben mit Hämatoxylin.
2. Färben mit 20fach verdünntem Karbolfuchsin $^1/_2$—24 Stunden.
3. Differenzieren in 60proz. Alkohol (unter dem Mikroskop kontrollieren).

Nicht alle Hefezellen werden rot.

4. Fadenpilze.

In frischem Zustande zu untersuchen in einer Mischung von Alkohol und Glyzerin āā, der einige Tropfen Ammoniaklösung zugesetzt sind, da die Fadenpilze sich nicht mit Wasser benetzen lassen. Gefärbte Ausstrichpräparate sind entbehrlich. In Schnittpräparaten färben sich die Schimmelpilze mit Methylenblau, manchmal auch mit Hämatoxylin.

Untersuchung auf der Haut schmarotzender Pilze (wie Mikrosporon furfur) geschieht am besten in Glyzerin, dem man eine Spur Methyl- oder Gentianaviolett zugesetzt hat.

5. Protozoen.

In frischem Zustande untersuche man in denjenigen Flüssigkeiten, in denen sich die Protozoen im Körper vorfinden. Physiologische Kochsalzlösung ist meistens schon nicht indifferent, reines Wasser oder gar schwache Laugen oder Säuren zerstören die zarten Gebilde sofort. Will man also z. B. Darmamöben untersuchen, so darf der Darm zuvor keinesfalls mit Wasser in Berührung gekommen sein.

Ausstrichpräparate fixiere man wie Blutpräparate, am besten in absolutem Alkohol oder Alkoholäther. Als Färbemethode ist für die meisten Protozoen (besonders Malariaparasiten) die Giemsasche Methode (siehe S. 53) zu empfehlen. Der Protoplasma-

leib wird blau, das Chromatin rot. Für die schwer färbbare Spirochaete pallida muß die Färbung mit Giemsalösung auf 2—3 Stunden ausgedehnt werden. Besser ist noch die Originalvorschrift von Schaudinn und Hoffmann*): Färben 16—24 Stunden in folgender, stets frisch zu bereitender Lösung:

0,005 proz. Eosinlösung . . .	12
0,1 proz. Lösung von Azur I .	3
0,08 proz. Lösung von Azur II	3.

Abspülen mit destilliertem Wasser.

Zum Nachweis von Rekurrensspirillen behandelt man die fixierten Blutpräparate (zur Zerstörung der roten Blutkörperchen) 10 Sekunden lang mit 5proz. Essigsäure, spült ab und färbt einige Minuten mit Karbolfuchsin; Spirillen rot, Erythrozyten rosa oder farblos.

Zum Nachweis von Protozoen in Schnittpräparaten härte man in Sublimat, bette in Paraffin ein und färbe gleichfalls nach Giemsa (vergl. die Blutfärbung nach Schridde S. 54). In manchen Fällen gibt die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinfärbung (siehe S. 36) noch bessere Resultate.

Der Nachweis des Spirochaete pallida in Schnitten geschieht auf folgende Weise: 1. Fixierung möglichst kleiner Stücke in Formalin 1—2 Tage.

2. 96proz. Alkohol 24 Stunden.

3. Abspülen in destilliertem Wasser, Einlegen in 2proz. Agentum nitricum-Lösung auf sechs Tage bei Brutwärme.

4. Abspülen in destilliertem Wasser, Reduzieren zwei Tage bei Zimmerwärme in folgender Mischung:

Pyrogallussäure . . .	4
Formalin	5
Dest. Wasser	100.

*) *Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt* Bd. 20 S. 527.

5. Auswaschen in destilliertem Wasser, Härten in Alkohol, Einbetten in Paraffin.

Alle diese Prozeduren sind im Dunkeln auszuführen, da sonst massenhaft Niederschläge entstehen. Man klebe die möglichst dünnen Schnitte auf, entparaffiniere und schließe in Balsam ein. Spirochaeten schwarz.

6. Höhere tierische Parasiten.

Handelt es sich um Untersuchung von Flüssigkeiten auf Bestandteile bezw. Eier von Parasiten, so sedimentiere oder zentrifugiere man und fertige frische Präparate. Gewebsbrocken werden zerzupft, eventuell nach vorheriger Entkalkung.

Muskeltrichinen isoliert man durch vorsichtiges Zerzupfen und behandelt bei vorhandener Verkalkung mit 5proz. Salzsäure.

Zur Untersuchung in Geweben eingeschlossener Parasiten oder Parasitenteile ist Härtung, Einbettung und Färbung beliebig. Wenn das Körpergerüst der Parasiten chitinhaltig ist, wie z. B. bei Milben, läßt sich die Tuberkelbazillenfärbung anwenden. Manchmal läßt starke Eosinfärbung (siehe Strahlenpilze S. 70) die Teile des Parasiten gut hervortreten.

Anhang.

Konservierung makroskopischer Präparate in den natürlichen Farben.

Bei Konservierung der natürlichen Farben kommt es wesentlich auf die Erhaltung des Blutfarbstoffs und des Fettes an. Alle angegebenen Methoden stimmen überein in der nacheinanderfolgenden Einwirkung von Formalin, Alkohol und Glyzerin. In Formalin wird der Blutfarbstoff in saures Hämatin verwandelt, das in Alkohol in das rote alkalische Hämatin umschlägt. Dieser chemische Vorgang kann unterstützt werden durch verschiedene Zusätze zu der Formalinlösung, unter denen der von Pick empfohlene (künstliches Karlsbader Salz) der billigste, der von Kaiserling angegebene der günstigste ist; auch soll durch den Salzzusatz der zu starken Auslaugung der roten Blutkörperchen durch die hypotonische Formalinlösung vorgebeugt werden. Dauerndes Verweilen in Alkohol würde den Blutfarbstoff schließlich zerstören und das Fett lösen. Die endgültige Aufbewahrung der Präparate erfolgt daher in Glyzerin, das man zweckmäßig mit einer Kalium aceticum-Lösung verdünnt, da Glyzerin allein die Präparate zu durchsichtig machen würde.

Kaiserlings Vorschrift lautet folgendermaßen:

1. Brunnenwasser . . . 4000
   Formalin 800
   Kal. acetic. 85
   Kal. nitric. 45
2. 80—90 proz. Alkohol
3. Dest. Wasser . . . 900
   Kal. acetic. 200
   Glyzerin . . . . . 300.

In der ersten Lösung bleiben die Präparate je nach ihrer Größe 1—4 Tage, bis sie ganz durchfixiert sind. Kommt es nicht auf die Form und Größe des ganzen Organs an, sondern nur auf die Schnittfläche (z. B. Muskatnußleber), so begnüge man sich mit einer Scheibe. Die Präparate müssen beim Einlegen sofort in diejenige Lage gebracht werden, in der sie konserviert werden sollen. Durch Unterlegen bezw. Umwickeln mit Watte sorge man dafür, daß die Flüssigkeit von allen Seiten einwirken kann. In größere Organe sind Einschnitte zu machen.

Im Alkohol verweilen die Präparate so lange, bis die Farben wiedergekehrt sind (möglichst nicht länger!); das pflegt nach einer, längstens nach acht Stunden eingetreten zu sein.

Die dritte Lösung wird zunächst durch die aus dem Alkohol hineingebrachten Präparate getrübt und muß daher mindestens einmal gewechselt werden. Das gegebene Rezept ist nicht schematisch in jedem Falle anzuwenden; durch größeren oder geringeren Zusatz von Glyzerin kann man die Präparate mehr oder weniger durchsichtig machen und durch diese kleine Änderung ihr Aussehen oft bedeutend verbessern. So z. B. verlangen jugendliche Knochen viel, fibrinöse und käsige Pneumonie wenig Glyzerin.

Ikterus läßt sich nicht mit diesen Methoden konservieren; der Gallenfarbstoff wird in der Formalinlösung grün und imbibiert meist das ganze Präparat.

Schwierig ist die Konservierung von Harnsäure und harnsauren Salzen. Man darf die Präparate nicht in die Formalinlösung bringen, sondern setzt sie in einem verschlossenen Gefäß, auf dessen Boden formalingetränkte Watte liegt, mehrere Stunden lang Formalindämpfen aus. Einlegen in 96proz. Alkohol, bis die Farben wiederkehren (möglichst kurz!); dem Alkohol setzt man nach Westenhoeffer zweckmäßig

etwas Quecksilberoxyd zu. Aufbewahren in reinem Glyzerin, dem man öfter zu erneuerndes Quecksilberoxyd zusetzt.

Kalk wird durch die im käuflichen Formalin stets enthaltene Ameisensäure angegriffen. Handelt es sich um die Konservierung geringer Kalkmengen (Kalkmetastasen, Kalkinfarkte), so ist gleichfalls die Räuchermethode anzuwenden.

Namen- und Sachregister.

Abstrichpräparat 11.
Achromatische Spindel 37.
Achsenzylinder 57.
Aktinomyces 70.
Alaunkarmin 34.
— zur Stückfärbung nach Schridde 36.
Alkoholhärtung 15.
Altmannsche Fixierung 18.
— Granulafärbung 38.
Amyloid 44.
Anilinfarbstoffe zur Kernfärbung 35.
— zur Bakterienfärbung 68.
Anilinöl-Xylol 43.
Anilinwasser-Gentianaviolett 42, 68.
— -Säurefuchsin 38, 54.
Argentum nitricum zum Nachweis der Achsenzylinder 58.
— — zum Nachweis von Kalk im Knochen 63.
— — zum Nachweis der Spirochäte pallida 72.
Aufhellung von Schnittpräparaten 31.
Aufkleben von Celloidinschnitten 28.
— von Paraffinschnitten 26.
Auskratzungen, Untersuchung 67.
Ausstrichpräparate v. Bakterien 67.
— von Blut 51.
Azetonhärtung 16.

Bakterien 67.
Basophile Granulationen 53.
Barberios Reaktion auf Sperma 66.
Beleuchtung, künstliche 7.
Berlinerblau-Reaktion 49.
Bests Glykogenfärbung 46.
Bielschowskys Achsenzylinderfärbung 58.
Bindegewebsfärbungen 40.
Bismarckbraun s. Vesuvin 35, 49.
Blut 51.
— Nachweis zu gerichtl. Zwecken 55.
Blutplättchen 53.
Böhmers Hämatoxylin 33.

Busses Schnittfärbung für Hefen 71.

Carmin s. Karmin.
Celloidin, Einbettung 22.
— Schneiden 27.
Cholestearin 48.
Chromaffine Zellen 66.
Corpora amylacea 45.

Darm 56.
Deckgläser, Reinigung 9.
Deckglastrockenpräparate von Bakterien 67.
— von Blut und Knochenmark 51.
Doppelmesser 13.

Ehrlichs Triazidlösung 53.
Einbettung in Celloidin 22.
— in Paraffin 20.
— Schnelleinbettung 22.
Einbettungsrahmen 21.
Eisenalaunhämatoxylinfärbung nach Heidenhain 36.
Eisenhaltige Pigmente 49.
Eiweißglyzerin 26.
Elastische Fasern 41.
Entkalkung 18.
Eosin 37.
Eosinophile Granulationen 53.
Essigsäure z. Untersuchung frischer Präparate 11.
— zur Schleimreaktion 43.

Fadenpilze 71.
Färbung, Allgemeines 30.
Färbung ganzer Stücke 35.
— vitale 39.
Fasern, elastische 41.
— kollagene 40.
Fett 47.
Fettgewebsnekrosen 65.
Fetthaltige Pigmente 50.
Fettponceau 48.
Fibrin 42.
Fixierung von Bakterienpräparaten 68.
— von Blutpräparaten 52.
— von Gewebsstücken 14.
— von Protozoenpräparaten 71.
Flemmingsche Lösung 17.
Florencesche Reaktion auf Sperma 66.
Flüssigkeiten, Fixierung eiweißhaltiger 17.
— Untersuchung frischer 12.
— — auf Bakterien 12, 67.
— — auf tierische Parasiten 74.
Formalin 16.
Formalin-Müllerlösung 16.
Formalin-Salpetersäure zur Entkalkung 19.
Frische Präparate, Untersuchung 11.

Gallenpigment 50.
Ganglienzellen 57.
Gaylordscher Einbettungsrahmen 21.

Gefäße 56.
Gefriermikrotom 9, 13.
Gefrierschnitte 13.
Gelenke 62.
Gentianaviolett zur Amyloidreaktion 44.
— zur Kernfärbung 35.
— Anilinwassergentianaviolett 42, 68.
Geschlechtsapparat 66.
Geschwulstteile, Untersuchung 67.
Giemsas Lösung 53, 54.
van Giesonsche Färbung 37.
Glykogen 46.
Glyzerinäthermischung nach Unna 39.
Glyzerineiweiß 26.
Gmelinsche Reaktion 50.
Gramsche Färbung 68.
Granulationen der Leukozyten 53.
— der Lymphozyten 54.

Hämatoxylin nach Böhmer 33.
— nach Ehrlich 33.
— nach Heidenhain 36.
— nach Weigert zur Kernfärbung 34.
— nach Weigert zur Markscheidenfärbung 59.
Hängender Tropfen 12.
Härtung 14.
Halls Eisenreaktion 50.
Harnsaure Salze 49.
Haut 57.
— Hornsubstanzen 45.
— Pilze 71.
Hefen 70.
Heidenhains Eisenalaunhämatoxylin 36.
Herz 56.
Hobelmikrotome 9.
Hoffmann s. Schaudinn.
Hornsubstanzen 45.
Hyalin 45.

Immersion, Reinigen 7.
Instrumentarium 7.

Jodgummi 46.
Jodjodkaliumlösung zur Amyloidreaktion 44.
— zur Fibrinfärbung nach Weigert 42.
— zur Florenceschen Spermareaktion 66.
— zur Gramschen Färbung 68
— zur Mazeration 11.
— zur Neurogliafärbung 61.
Jodschwefelsäurereaktion 44.

Kaiserlingsche Flüssigkeit 74.
Kalialaun 18.
Kalilauge 11.
Kalium aceticum 31.
Kalk, Untersuchung 49.
— Entkalkung 18.

Kalk, fraglicher Gehalt der Knochen 62.
Karbolfuchsin 69.
Karbolxylol 32.
Karmin, Alaun- 34.
— Lithion- 34.
— Muci- 43.
— Glykogenfärbung 46.
Keratohyalin 57.
Kernfärbungen 33.
Kernstrukturen 36.
Kernteilungsfiguren 36.
Knochen 62.
Knochenkörperchen 63.
Knochenmark 51.
Knorpel 41.
Kochmethode 17.
Kochsalzlösung, physiologische 11.
Kollagene Fasern 40.
Kolloid 48.
Konservierung von Schnittpräparaten 32.
— makroskopischer Präparate in den natürlichen Farben 74.
Kresylviolett 43.

Langhanssche Glykogenreaktion 46.
Leber 65.
Leprabazillen 69.
Leukozyten 53, 54.
Lichtquellen für mikroskopische Untersuchung 7.
Lipochrome s. fetthaltige Pigmente.
Lithionkarmin 34.
Löfflers Methylenblau 68.
Lubarschs Glykogenfärbung 46.
Lugolsche Lösung 11.
Lunge 64.
Luteinzellen 50.
Lymphdrüsen 55.
Lymphozyten 54.
Lysol zum Deckglasreinigen 9.

Mazeration 11, 12.
Malariaparasiten 71.
Mallorys Bindegewebsfärbung 40.
Marchische Methode 48.
Markscheiden 59.
Mastzellen 39, 53, 54.
May-Grünwaldsche Lösung 54.
Methylenblau 35.
— Löfflers 68.
Methylgrün-Pyronin 39.
Methylviolett s. Gentianaviolett.
— zur Neurogliafärbung 61.
Mikroskope 7.
Mikrotome 9.
Milz 55.
Mucikarmin 43.
Müllersche Lösung zur Fixierung 16.

Müllersche Lösung zur unvollständigen Entkalkung 62.
Müller-Formalinlösung 16.
Muskeln 64.
Myelin 47.

Natronlauge 11.
Nebennieren 65.
Nervensystem 57.
Neuroglia 60.
Neutralrot 47, 57.
Nieren 65.
Nigrosin 60.
Nisslsche Körner 57.

Objektive 7.
Objektträger, Reinigen 9.
Obregia-Weigerts Methode für Celloidinserien 29.
Ödem, Fixierung 17.
Öle zur Aufhellung von Schnittpräparaten 31.
Okulare 7.
Olts Methode für Celloidinserien 28.
Orthsche Lösung 16.
Osmiumsäure-Fixierung v. Blutpräparaten 52.

Pankreas 65.
Paraffin, Einbettung 20.
— Schneiden 24.
— Schnelleinbettung 22.
Parasiten, Untersuchung 67.
— — höhere tierische 73.
Phlorogluzin-Salpetersäure-Entkalkung 19.
Physiologische Kochsalzlösung 11.
Picks Flüssigkeit 74.
Pigmente 49.
Pikrinsäure zur Protoplasmafärbung 37.
— zur Spermareaktion 66.
Plasmazellen 39.
Polkörperchen 37.
Polychromes Methylenblau 39.
Probeexzisionen 67.
Prostata 66.
Protagon 47.
Protoplasmafärbungen 37.
Protoplasmastrukturen 38.
Protozoen 71.
Pyronin-Methylgrünfärbung 39.

Quetschpräparate 12.

Rasiermesser, Schneiden 13.
Rekurrensspirillen 72.

Saffranin 35.
Salpetersäure, Entkalkung 18.
Salzsäure, Entkalkung 11.
Salzsäurealkohol 31.
Samenflecken 66.
Schaudinn und Hoffmann, Färbemethode für Spirochaete pallida 72.
Schilddrüse 64.
Schimmelpilze 71.

Schlegels Aktinomyzesfärbung 70.
Schleim 43.
Schleimhäute 56.
Schlittenmikrotome 10.
Schmorls Amyloidfärbung 45.
— Darstellung d. Knochenkörperchen 63.
Schnelleinbettung 22.
Schnittpräparate, Doppelmesser 13.
— Gefriermikrotom 13.
— Rasiermesser 13.
— Schlittenmikrotom, Celloidin 27.
— — Paraffin 24.
— allgemeines üb. Färbung und Konservierung 30.
Schriddes Nachweis von Lymphozytenkörnelungen 54.
— Färbung von Blut in Schnittpräparaten 54.
— Fixierung und Durchfärbung ganzer Stücke 36.
Sehnen 64.
Serienschnitte, Celloidin 28.
— Paraffin 27.
Seröse Häute 56.
Smegmabazillen 69.
Soorpilz 70.
Speicheldrüsen 65.
Sperma 66.
Spirochaete pallida, Ausstrichpräparat 72.
Spirochaete pallida, Schnittpräparat 72.
Sproßpilze 70.
Stabilit 23.
Stoeltzners Markscheidenfärbung 59.
Strahlenpilze 70.
Stückfärbung 35.
Sublimatfixierung 16.
Sudan III 48.
Teichmannsche Blutkristalle 55.
Thionin, Schleimfärbung 43.
— Ganglienzellenfärbung 57.
Triazidlösung 53.
Trichinen 73.
Trockenpräparate von Bakterien 67.
— von Blut 51.
Tropfen, hängender 12.
Tuberkelbazillen 69.
Unnas Glyzerinäthermischung 39.
— polychromes Methylenblau 39.
Vesuvin 35, 49.
Vitale Färbung 39.
Weidenreichs Blutfixierungsmethode 52.
Weigerts Elastinfärbung 41.
— Fibrinfärbung 42.
— Hämatoxylin 34.
— Markscheidenfärbung 59.
— Neurogliafärbung 60.

Weigert-Obregia, Celloidinserien 29.
Westenhoeffers Konservierung harnsaurer Salze 75.
Wimmers Modifikation der Weigertschen Neurogliafärbung 62.
Xylol 20, 31.
Xylolparaffin 20.
Zenkersche Lösung 17.
Zentrosome s. Polkörperchen.
Zielers Blutfärbung in Schnitten 55.
Zupfpräparate 12.

Verlag von Johann Ambrosius Barth in Leipzig.

Ein bewährter Ratgeber ist das in **7. Auflage** erschienene und als „**Viermännerbuch**“ bekannte:

Diagnostisch-therapeutisches Vademecum

für Studierende und Ärzte

zusammengestellt von

San.-Rat **Dr. Heinrich Schmidt** **Dr. L. Friedheim**
Dr. A. Lamhofer und **Dr. J. Donat**

VII u. 430 Seiten mit Abbildungen; 1906, als Taschenbuch mit Bleistiftöse in abwaschbar. Leinen eleg. geb. Preis M. 6.—; geb. und durchschossen Preis M. 7.—.

Schmidt's Jahrbücher: Man kann nicht gut mehr des Tatsächlichen, Wissenswerten auf einen so knappen Raum zusammenfassen. Die Antworten, die der Unsichere erhält, sind überall klar und richtig.

Taschenbuch der mikroskopischen Technik der Protistenuntersuchung

von **Dr. S. von Prowazek (Hamburg).**

66 S. mit Schreibpapier durchschossen. 1907. Geb. M. 2.—

Es dürfte kaum jemand anders besser befähigt sein, eine Methodik und Technik der Protistenuntersuchung für Mediziner zu schreiben als der Verf., und es wird daher das kleine Büchlein überall da, wo über den Gegenstand gearbeitet wird, von Bakteriologen und Zoologen gern zur Hand genommen werden.

Chemische und mikroskopische Diagnostik.

Eine prakt. Einführung für Studierende und Ärzte

von **Dr. G. Zuelzer.**

XII, 256 S. mit 109 Abb. und 9 farb. Tafeln. 1907. M. 9.—, geb. M. 10.—.

Zentralblatt für innere Medizin: Das vorliegende Buch will keine ausführliche und auch keine systematische Diagnostik sein, vielmehr will es dem praktischen Bedürfnis des Lernenden, der sich nach einfachen und brauchbaren Methoden, ihrer richtigen Ausführung und ihrer klinischen Bedeutung umsieht, entgegenkommen. Diesem Zweck entspricht es in vorzüglicher Weise. Durch zahlreiche Abbildungen werden die Befunde erläutert. Das Buch wird zweifellos seinen Weg in die Praxis finden.

Zeitschrift für Urologie: Das Werkchen beweist, daß der Verfasser eine gute klinische Erfahrung und einen treffenden Blick für das Wesentliche in der Krankengeschichte und dem Krankheitsbilde eines Falles besitzt. Dazu kommt eine sehr gefällige präzise *Diktion*; alles das macht die Lektüre vieler Kapitel geradezu *zu einer* angenehmen, ja sogar erfreulichen Beschäftigung.

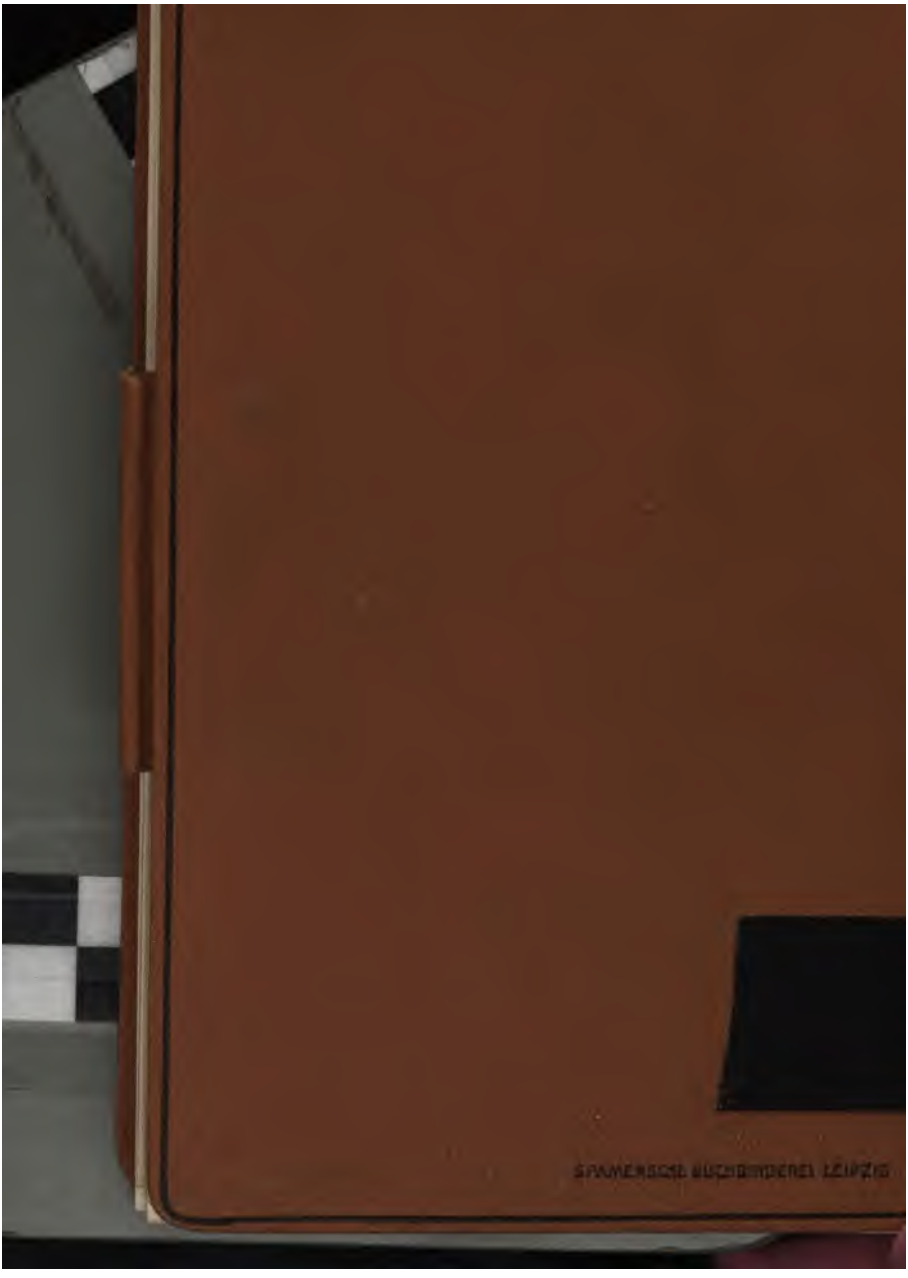
LANE MEDICAL LIBRARY

This book should be returned on or before
the date last stamped below.

10M-4-49—63290

J37 Beitzke, H. 116340
B42 Taschenbuch der patholo-
1907 gisch-histologischen
~~Untersuchungsmethoden.~~

NAME	DATE DUE


STAMMLERSCHE BUCHBINDEREI LEIPZIG